

**Comparativa entre les teràpies gèniques
virals en desenvolupament contra la
malaltia d'Alzheimer**

Estudiant: Ismael Teldi Ramos

Correu electrònic: ismaelteldi@gmail.com

Grau en Biotecnologia

Tutor o tutor acadèmica: Eva Bussalleu Muntada

Correu electrònic: eva.bussalleu@udg.edu

Data de dipòsit de la memòria a través de la plataforma de TFG: 04/07/2024

Índex

Resum.....	i
Resumen.....	ii
Abstract	iii
Reflexió sobre ètica	iv
Reflexió sobre sostenibilitat	iv
Reflexió sobre perspectiva de gènere	iv
1. Introducció	1
1.1. La teràpia gènica	1
1.1.1. Definició de teràpia gènica.....	1
1.1.2. Vectors virals i Vectors no virals	1
1.1.3. Classificacions de la teràpia gènica	1
1.2. L'Alzheimer	2
1.2.1. La malaltia d'Alzheimer.....	2
1.2.2. Causes de l'Alzheimer	3
1.2.2.1. El pèptid beta amiloide	3
1.2.2.2. Tau hiperfosforilada	5
1.2.2.3. Causes genètiques	6
1.2.2.4. Neuroinflamació i la micròglia	7
1.2.2.5. Pèrdua de connexions sinàptiques	7
1.2.3. Diagnòstic i avaluació de l'Alzheimer.....	8
1.2.4. Mortalitat associada a la malaltia d'Alzheimer.....	9
1.2.5. Tractaments actuals contra l'Alzheimer	10
2. Objectives.....	11
3. Metodologia	11
4. Resultats i discussió.....	12
4.1. Lexeo Therapeutics	13
4.1.1. Teràpia gènica LX1001	13
4.1.2. Teràpia gènica LX1021	15
4.1.3. Teràpia gènica LX1020	17
4.2. Voyager Therapeutics	17
4.2.1. Teràpia gènica "Tau knock-down"	17
4.3. Teràpia gènica AAV2-BDNF	18
4.4. Passage Bio	19
4.4.1. Teràpia gènica PBFT02	19
4.5. Anàlisi comparativa de les diferents teràpies gèniques per tractar la malaltia d'Alzheimer.....	20
5. Conclusions	22
6. Bibliografia.....	22

Resum

La malaltia d'Alzheimer s'ha convertit en una de les causes més comunes de demència, especialment entre les persones majors de 65 anys, i la seva incidència està augmentant a nivell mundial. Aquesta malaltia neurodegenerativa es caracteritza per la pèrdua progressiva de funcions cognitives, deteriorant significativament la qualitat de vida dels pacients i suposant una càrrega substancial per a les famílies i el sistema de salut. La necessitat d'investigar tractaments efectius és urgent, ja que el seu impacte està creixent.

Les principals causes de l'Alzheimer són l'acumulació de pèptid beta amiloide i la formació de cabdells neurofibril·lars de tau hiperfosforilada, factors genètics que provoquen inflamació crònica, disfunció de la micròglia i interrupció de les connexions sinàptiques. Actualment els tractaments se centren en alleujar els símptomes, usant-se dos grans grups de medicaments: colinèrgics i glutamanèrgics.

Els colinèrgics augmenten els nivells d'acetilcolina, frenant el deteriorament cognitiu associat a l'Alzheimer, mentre que, els glutamanèrgics actuen com a antagonistes dels receptors NMDAR, que tenen un paper crucial en la plasticitat, la neurotransmissió i la formació de memòria.

Actualment l'únic tractament aprovat per la FDA als Estats Units per aturar la progressió de l'Alzheimer és el Lecanemab, un anticòs monoclonal que té com a objectiu eliminar les plaques beta amiloides solubles del cervell. Tot i això, també actualment s'estan desenvolupant teràpies gèniques virals per combatre la malaltia.

L'objectiu d'aquest treball bibliogràfic (amb la bibliografia consultada en bases científiques i especialitzades) és analitzar diferents investigacions que s'estan realitzant per desenvolupar teràpies gèniques virals contra la malaltia d'Alzheimer. S'ha pogut determinar que la majoria de les teràpies estan destinades a millorar el sistema immunitari i a combatre la malaltia mitjançant l'autofàgia, generalment tot modificant la dotació cromosòmica de les cèl·lules de la micròglia per tal de potenciar la seva actuació. Les modificacions inclouen l'augment de l'expressió de BDNF, l'augment de l'expressió de progranulina i el canvi de genoma dels homozigots d'APOE4 a APOE2. A més de les tècniques d'autofàgia, hi ha un estudi que té com a objectiu reduir l'expressió de tau.

Els tractaments analitzats en aquest treball es troben en fases inicials de desenvolupament; alguns es troben en fase preclínica, altres en fase de descobriment i alguns ja comencen les primeres fases clíniques en tots ells s'ha determinat que el vector més adient per a aquestes teràpies és el virus adenoassociat.

Resumen

La enfermedad de Alzheimer se ha convertido en una de las causas más comunes de demencia, especialmente entre las personas mayores de 65 años, y su incidencia está aumentando a nivel mundial. Esta enfermedad neurodegenerativa se caracteriza por la pérdida progresiva de funciones cognitivas, deteriorando significativamente la calidad de vida de los pacientes y suponiendo una carga sustancial para las familias y el sistema de salud. La necesidad de investigar tratamientos efectivos es urgente, ya que su impacto está creciendo.

Las principales causas del Alzheimer son la acumulación de péptido beta amiloide y la formación de ovillos neurofibrilares de tau hiperfosforilada, factores genéticos que provocan inflamación crónica, disfunción de la microglía e interrupción de las conexiones sinápticas. Actualmente los tratamientos se centran en aliviar los síntomas, usándose dos grandes grupos de medicamentos: colinérgicos y glutamatérgicos.

Los colinérgicos aumentan los niveles de acetilcolina, frenando el deterioro cognitivo asociado al Alzheimer, mientras que los glutamatérgicos actúan como antagonistas de los receptores NMDAR, que tienen un papel crucial en la plasticidad, la neurotransmisión y la formación de memoria.

Actualmente el único tratamiento aprobado por la FDA en Estados Unidos para detener la progresión del Alzheimer es el Lecanemab, un anticuerpo monoclonal que tiene como objetivo eliminar las placas beta amiloides solubles del cerebro. Sin embargo, también se están desarrollando terapias génicas virales para combatir la enfermedad.

El objetivo de este trabajo bibliográfico (con la bibliografía consultada en bases científicas y especializadas) es analizar diferentes investigaciones que se están realizando para desarrollar terapias génicas virales contra la enfermedad de Alzheimer. Se ha podido determinar que la mayoría de las terapias están destinadas a mejorar el sistema inmunitario y a combatir la enfermedad mediante la autofagia, generalmente modificando la dotación cromosómica de las células de la microglía para potenciar su actuación. Las modificaciones incluyen el aumento de la expresión de BDNF, el aumento de la expresión de progranulina y el cambio de genoma de los homocigotos de APOE4 a APOE2. Además de las técnicas de autofagia, hay un estudio que tiene como objetivo reducir la expresión de tau.

Los tratamientos analizados en este trabajo se encuentran en fases iniciales de desarrollo; algunos se encuentran en fase preclínica, otros en fase de descubrimiento y algunos ya comienzan las primeras fases clínicas. En todos ellos se ha determinado que el vector más adecuado para estas terapias es el virus adenoasociado.

Abstract

Alzheimer's disease has become one of the most common cause of dementia, especially among people over 65 years old, and its incidence is increasing worldwide. This neurodegenerative disease is characterized by the progressive loss of cognitive functions, significantly deteriorating patients' quality of life and posing a substantial burden on families and the healthcare system. The need to research effective treatments is urgent, as its impact is growing.

The main causes of Alzheimer's are the accumulation of beta-amyloid peptide and the formation of hyperphosphorylated tau neurofibrillary tangles, genetic factors that cause chronic inflammation, microglia dysfunction and disruption of synaptic connections. Currently, the treatments focus on alleviating symptoms, using two major groups of medications: cholinergic and glutamatergic drugs.

Cholinergic drugs increase acetylcholine levels, slowing the cognitive decline associated with Alzheimer's, while glutamatergic drugs act as antagonists of the NMDAR receptors, which play a crucial role in plasticity, neurotransmission and memory formation.

At this time, the only treatment approved by the FDA in the United States to halt the progression of Alzheimer's is Lecanemab, a monoclonal antibody that aims to remove soluble beta-amyloid plaques from the brain. However, viral gene therapies are also being developed to combat the disease.

The objective of this bibliographic work (with the bibliography consulted in scientific and specialized databases) is to analyse different research being conducted to develop viral gene therapies against Alzheimer's disease. It has been determined that most therapies aim to improve the immune system and combat the disease through autophagy, generally by modifying the chromosomal makeup of microglial cells to enhance their performance. The modifications include increasing BDNF expression, increasing progranulin expression, and changing the genome of APOE4 homozygotes to APOE2. In addition to autophagy techniques, there is a study which targets the reduction of tau expression.

The treatments analysed in this work are in the early stages of development; some are in the preclinical phase, others in the discovery phase, and some are beginning the first clinical phases. In all of them, it has been determined that the most suitable vector for these therapies is the adeno-associated virus.

Reflexió sobre ètica

El processos d'investigació tenen l'ètica com a eix central, ja que qualsevol manca de fiabilitat o bé un frau intencionat, poden generar un greu perjudici, no només a la investigació en curs, sinó als treballs posteriors basats en aquest estudi i també a nivell general en la solvència i credibilitat investigadora. Un exemple en la recerca de l'Alzheimer van ser les manipulacions en les imatges de Western Blot per afavorir les teories de què la principal causant de la malaltia eren els oligòmers A β *56, publicat per Sylvain Lesné al 2006 [1].

Basant-se en aquesta teoria es van realitzar nombrosos estudis per cercar teràpies contra l'Alzheimer que no van ser efectives. Posteriorment es va demostrar que la teoria de Lesné era errònia, i va ser considerada mala praxis científica amb grans pèrdues de temps d'investigació i econòmiques. Aquestes pràctiques són inacceptables i tant les autoritats com les revistes científiques han de prendre part en la prevenció i la condemna d'aquestes pràctiques.

Reflexió sobre sostenibilitat

Aquest projecte està alineat amb els Objectius de Desenvolupament (ODS) 2030 proposats per la ONU. Concretament, forma part de ***l'objectiu 3 Salut i Benestar***. Aquest objectiu es centra en aconseguir una cobertura sanitària universal i proporcionar accés a tractaments segurs i assequibles per a tota la població. Els tractaments per l'Alzheimer que existeixen actualment, tenen un cost molt elevat, la finalitat és aconseguir que els governs prenguin mesures per tal de subvencionar aquests tractaments.

Aquest treball col·labora també amb als criteris de sostenibilitat ja que al ser un treball de recerca bibliogràfica, no s'han utilitzat recursos que puguin malmetre l'ecosistema.

Reflexió sobre perspectiva de gènere

En la recerca científica, les dones històricament han tingut un segon sobretot en la publicació d'articles, un clar exemple és la bibliografia d'aquest treball on si s'analitzen els autors, hi ha una majoria notable d'autors masculins (68,6%) en comparació amb les autores femenines (28,4%) i en un petit percentatge de casos de la bibliografia no s'ha pogut determinar el gènere (3%). Aquest desequilibri pot influir en la diversitat de perspectives i en els enfocaments de la recerca, potser limitant la inclusió de metodologies i punts de vista significatius aportats per les dones. És important abordar aquesta disparitat fomentant una selecció de bibliografia més equilibrada per millorar la qualitat i la integritat de la recerca en aquest àmbit crític de la ciència.

1. Introducció

1.1. **La teràpia gènica**

1.1.1. Definició de teràpia gènica

La teràpia gènica és un dels grans avenços en la indústria biotecnològica dels últims anys i es defineix com el conjunt de tècniques que tenen com a objectiu modificar l'expressió de determinades proteïnes. La modulació es pot realitzar a partir del transport de seqüències d'ADN o RNA a l'interior de les cèl·lules diana, o mitjançant tècniques de modificació genòmica com el CRISPR/Cas9. Aquest procés permet afegir, suprimir o substituir bases nitrogenades de la dotació genètica de la cèl·lula [2].

Aquestes modificacions permeten la possibilitat de reparar l'expressió de determinades proteïnes, ja sigui inhibint-ne l'expressió, augmentant-la o bé substituint el gen que transcriu aquesta proteïna en concret, de manera que si la teràpia és efectiva, la proteïna se sintetitzarà correctament, esdevenint en molts casos el canvi irreversible. Aquesta característica ha fet que la teràpia gènica sigui una de les opcions més prometedores a l'hora de combatre malalties, un cop s'identifiquen quines són les dianes a modificar.

1.1.2. Vectors virals i Vectors no virals

La introducció del material genètic es pot dur a terme mitjançant ADN nu o amb vehicles biològics anomenats vectors, que poden ser vectors virals o no virals [3].

- 1) Els vectors virals són vehicles biològics derivats de virus amb el seu genoma modificat. Aquesta modificació implica la supressió de certes àrees genòmiques del virus per eliminar-ne la virulència i restringir la replicació del virus, així com l'addició del gen terapèutic (transgen). Tot i que les modificacions els converteixen en segurs, aquests vectors encara poden provocar respostes inflamatores o problemes d'immunogènecitat [4].
- 2) Els vectors no virals són mètodes d'introducció de material genètic que recorren a sistemes físics o químics. Tot i que la seva eficiència és inferior a la dels vectors virals, destaquen per la menor inducció de resposta del sistema immunitari i l'absència de limitacions de mida per al transgen [4].

1.1.3. Classificacions de la teràpia gènica

Les teràpies gèniques es poden classificar segons el tipus de cèl·lula diana i segons el tipus de tècnica.

Pel que fa a la classificació segons el tipus de cèl·lula diana, es poden distingir 2 grans grups:

- 1) La teràpia gènica de cèl·lules germinals, que té com a objectiu modificar la dotació genètica de les cèl·lules implicades en la formació d'òvuls i espermatozoides. És a dir, s'alteren les dotacions genètiques transmissibles a la descendència. En aquesta teràpia gènica, es busca corregir les malalties congènites.
- 2) La teràpia gènica somàtica és aquella dirigida a modificar la dotació genètica de cèl·lules no germinals, és a dir, les cèl·lules somàtiques o constituents de l'organisme. Per tant en aquest cas les modificacions no seran transmeses a la descendència.

Una altre classificació de teràpia és segons si aquesta s'aplica *in vivo* o *ex vivo*.

- 1) En la teràpia gènica *in vivo*, el material genètic s'introdueix directament en les cèl·lules de l'organisme, sense que es produeixi ni l'extracció ni la manipulació *in vitro* d'aquestes. Aquesta tècnica suposa un avantatge gràcies a la fàcil administració tot i que no hi ha un control minuciós de tot el procés de transferència; a més l'eficiència global és menor degut a que no es poden amplificar les cèl·lules transduïdes o tranfectades, la qual cosa fa que sigui difícil aconseguir un alt grau d'especificitat tissular.
- 2) La teràpia gènica *ex vivo*, en canvi, comprèn tots aquells protocols on les cèl·lules són extretes i aïllades del pacient, per posteriorment fer-les créixer en cultiu i realitzar el procés de transferència gènica *in vitro*. Un cop s'han seleccionat les cèl·lules que han sigut transduïdes, aquestes s'expandeixen en cultiu i s'introdueixen novament al pacient. Tot i que és cert que la teràpia gènica *ex vivo* té l'avantatge de garantir una major eficàcia i control sobre tot el procés, té l'inconvenient que les tècniques usades són més complexes, i per tant, augmenta el cost dels protocols. A més a més, no es poden transduir les cèl·lules de teixits que no tinguin la capacitat de créixer en cultiu. Finalment, degut a l'extracció i aïllament de les cèl·lules, també s'incrementen els riscos de contaminació [5–8].

1.2. L'Alzheimer

1.2.1. La malaltia d'Alzheimer

La malaltia d'Alzheimer és un trastorn del cervell que es caracteritza per la pèrdua gradual de la memòria, la capacitat de raonar i les habilitats socials. Aquests canvis tenen una notable importància en la vida de les persones que pateixen aquest trastorn [9].

La malaltia d'Alzheimer va ser descrita per primera vegada a principis del segle XX. El primer cas conegut i documentat va ser el d'Auguste Deter, una dona alemanya de menys de 50 anys que va començar a experimentar pèrdua de memòria, canvis de comportament i problemes per parlar i escriure. El 1901, va ser internada en una institució i el Dr. Alois Alzheimer, interessat pels símptomes inusuals que presentava per a la seva edat, va començar a estudiar el seu cas.

El Dr. Alzheimer va observar la progressió del deteriorament d'Auguste i va entrevistar-la per comprendre millor el seu estat. Va documentar que sovint estava desorientada i confusa, i les seves respostes a preguntes simples indicaven un significatiu deteriorament cognitiu. Després de la seva mort el 1906, el Dr. Alzheimer va examinar el seu cervell i va descobrir plaques i nusos, anomalies que més tard s'identificarien com les principals característiques de la malaltia d'Alzheimer.

Aquest descobriment va establir una nova comprensió de la demència com a resultat de canvis biològics en el cervell, i no simplement com a conseqüència de l'envelliment. Malgrat la seva importància, la malaltia va ser considerada rara durant molts anys fins a la dècada de 1970, quan es va començar a reconèixer el seu impacte més ampli. Des d'aleshores, la recerca i els esforços per trobar tractaments efectius han augmentat considerablement, tot i que encara no s'ha trobat una cura definitiva [10,11].

Actualment la malaltia d'Alzheimer és la causa de demència més comuna entre la població, ja que representa un 60-70% dels casos de demència, segons la Organització mundial de la salut [12].

S'estima que els casos de demència a nivell mundial augmentaran notablement en pocs anys. Actualment hi ha més de 55 milions de persones afectades, i segons les estimacions de l'OMS, aquest xifra s'enfilirà fins a uns 139 milions de persones l'any 2050.

Una de les causes d'aquest augment dels casos de demència, és l'esperança de vida de les persones afectades, ja que la majoria de persones malaltes són majors de 65 anys. L'any 2020, hi havia al món aproximadament uns 1000 milions de persones d'aquesta edat i s'estima que aquesta xifra sigui d'uns 2100 milions l'any 2050.

A més, també es preveu que dos terços d'aquesta població de més de 65 anys viurà en països de mitjans o baixos ingressos, fet que dificulta l'accés a la sanitat i a recursos que permetin tractar aquests trastorns [13].

1.2.2. Causes de l'Alzheimer

En un envelliment saludable el cervell tendeix a encongir-se fins a cert punt però, generalment, no perd grans quantitats de neurones. En canvi, en pacients amb Alzheimer, el dany és molt més extens, ja que moltes neurones deixen de funcionar correctament, perden les seves connexions amb altres neurones i, eventualment, moren. Aquesta malaltia interromp processos vitals per a les neurones i les seves xarxes, incloent-hi la comunicació, el metabolisme i la reparació.

En les primeres etapes, la malaltia d'Alzheimer sol afectar les connexions entre les neurones en parts del cervell que estan implicades en la memòria, com ara l'escorça entorrinal i l'hipocamp. Amb el temps el dany s'estén a altres zones del cervell com l'escorça cerebral, que és responsable del llenguatge, el raonament i el comportament social. Eventualment, moltes altres àrees del cervell també es veuen afectades i deixen de funcionar correctament.

Aquesta incomunicació es deu a diferents causes, que actualment encara no estan discernides en la seva totalitat, però sí que es coneix que hi ha factors molt lligats a aquesta pèrdua de la funcionalitat de les neurones.

1.2.2.1. *El pèptid beta amiloide*

El pèptid beta amiloide (A β) és una de les molècules més importants que causa la malaltia d'Alzheimer. Va ser una de les primeres causes que es va detectar l'any 1906 en les autòpsies cerebrals d'Auguste Deter i que s'ha anat detectant en la majoria de pacients diagnosticats amb aquesta condició.

L'A β és un producte de clivella d'una proteïna més gran anomenada proteïna precursora amiloide (APP), que és una proteïna transmembrana; a partir d'aquesta es poden produir dues vies d'actuació:

- 1) La via amiloidogènica: aquesta consisteix en el trencament de la APP mitjançant l'enzim α -secretasa. Aquesta via no produeix A β sinó que té com a producte un fragment neuroprotector anomenat sAPP α (alfa APP soluble).
- 2) La via no amiloidogènica: en aquesta via, en canvi, hi ha una clivella seqüencial pels enzims β -secretasa i γ -secretasa. En aquest cas el producte final sí que és el pèptid A β .

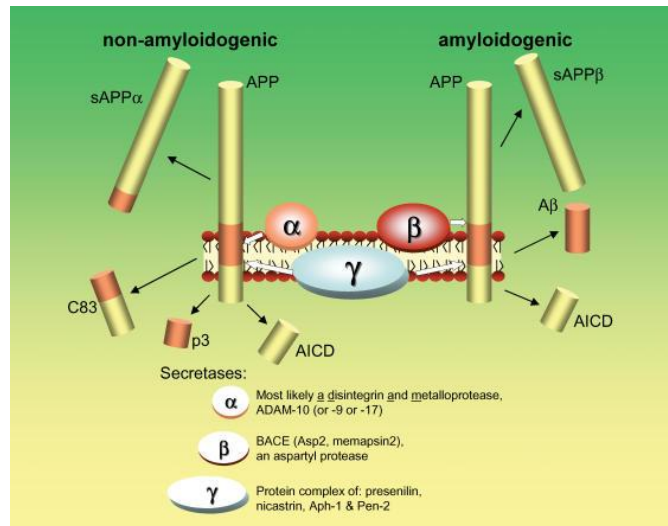


Figura 1. Esquema que representa el processament proteolític de la proteïna precursora de l'amiloide (APP) mitjançant una escissió no amiloidogènica (esquerra) i amiloidogènica (dreta) Imatge extreta de [14].

Un cop sintetitzat el pèptid Aβ es pot produir una agregació d'aquest formant plaques senils, una característica distintiva de la malaltia de l'Alzheimer. Degut a aquesta agregació hi poden haver diversos efectes neurotòxics que afectin negativament les connexions neuronal i les cèl·lules del sistema nerviós, produint la mort d'aquestes.

Una altra opció és que l'Aβ sigui degradada per enzims com la neprilisina, l'enzim degradant de la insulina o bé l'enzim convertidor de l'endotelina.

Aquesta producció i degradació del pèptid beta amiloide ve determinada per un equilibri del nivell d'aquesta molècula al líquid cefalorraquídi, on el nivell de Aβ es troba a concentracions baixes però detectables, fins i tot en persones sense demència [15, 16].

El pèptid Aβ sovint es considera un factor tòxic que cal eliminar per prevenir la demència. No obstant això, estudis recents han revelat que aquesta molècula pot modular l'activitat sinàptica i la supervivència neuronal, suggerint que l'Aβ podria tenir un paper beneficiós en la comunicació entre neurones i la salut neuronal en general [17].

De totes maneres, encara calen molts estudis per comprendre plenament les activitats fisiològiques de l'Aβ, així com els altres productes resultants de la proteòlisi de l'APP. En un dels estudis ja realitzats per determinar la funcionalitat d'aquest pèptid es va investigar què passa en absència d'Aβ. Es va arribar a la conclusió que la manca d'Aβ en neurones centrals pot provocar la mort cel·lular. No obstant això, en organismes complets com els ratolins, la manca d'APP o la reducció d'Aβ no provoca dèficits neurològics severos ni letalitat immediata, probablement a causa de mecanismes compensatoris o la importància d'altres productes del processament de l'APP [17].

En diferents estudis d'anàlisi patològiques, genètiques, biològiques i estudis amb biomarcadors s'ha demostrat també una estreta relació entre el rol del pèptid Aβ i el desenvolupament de l'Alzheimer. En les primeres fases de la malaltia s'han observat mutacions tant en el precursor de la APP com en la presenilina-1 (PS1) i la presenilina-2 (PS2). Tal i com es pot observar a la figura 1, tant la PS1 com la PS2 són subunitats catalítiques de la γ-secretasa, l'endoproteasa que es troba al final de la ruta anabòlica que genera l'Aβ [18].

Tot i que s'ha demostrat que l'A β està relacionat amb la malaltia, també s'ha establert que hi ha una feble connexió entre les deposicions d'A β i la severitat de la demència. Això pot ser degut a tres teories [19,20]:

- 1) Els efectes inicials de l'A β : L'A β podria tenir un efecte principal en les primeres etapes de la malaltia, desencadenant processos degeneratius que continuen independentment de la presència continuada d'aquest pèptid. Això s'ha observat en pacients que han rebut immunoteràpia per reduir l'A β del cervell, els quals continuen desenvolupant demència als mateixos nivells que pacients no tractats.
- 2) Hipòtesi de la tau (veure apartat següent per més detalls): aquesta teoria proposa que després de desencadenar-se la degeneració per l'A β , altres factors com l'acumulació de tau hiperfosforilades són les que continuen el procés degeneratiu.
- 3) Formes específiques d' A β : aquesta hipòtesis proposa que només hi ha unes formes concretes d'A β que provoquen a la demència i aquestes podrien tenir el mateix comportament que els prions.

1.2.2.2. *Tau hiperfosforilada*

Les proteïnes tau són essencials per a la funció neuronal, ja que estableixen els microtúbuls, estructures crucials per mantenir la integritat del citoesquelet i facilitar el transport axonal. La seva funció està regulada per la fosforilació de residus de serina i treonina, un procés mediat per diverses quinases, com la Fyn quinasa, la glicogen sintasa quinasa-3 β (GSK3 β) i la quinasa dependent de ciclina-5 (CDK5) [21].

En la malaltia d'Alzheimer les proteïnes tau esdevenen anormalment hiperfosforilades. Això disminueix l'afinitat de la tau pels microtúbuls, provocant la seva desestabilització. Les proteïnes tau hiperfosforilades s'agrupen formant agrupacions neurofibril·lars (NFTs), estructures tòxiques que s'acumulen en el citoplasma de les neurones. Aquest procés condueix a una pèrdua de microtúbuls i proteïnes associades a la tubulina, essencials per al citoesquelet neuronal [21].

La formació dels NFTs segueix diverses etapes seqüencials:

- 1) Fase *pre-tangle*: en aquesta etapa inicial, les proteïnes tau fosforilades s'acumulen en el compartiment somatodendrític (cos cel·lular i dendrites) sense formar filaments helicoidals aparellats (PHF).
- 2) NFTs madurs: les proteïnes tau formen agregats filamentosos que desplacen el nucli de la neurona cap a la perifèria del cos cel·lular, indicant un major grau de disfunció neuronal.
- 3) *Tangles* extracel·lulars o NFTs fantasma: aquesta etapa es produeix quan la neurona mor, alliberant els NFTs al medi extracel·lular, on es mostren resistents a la degradació per proteases.

La hiperfosforilació de la tau, ja sigui deguda a mutacions en els gens tau o a la desregulació de les quinases i fosfatases responsables de la seva fosforilació, és un procés clau en la patogènesi de l'Alzheimer. L'acumulació de tau hiperfosforilada afecta funcions cel·lulars cabdals, com la transmissió sinàptica, el transport axonal i la transducció de senyals, provocant una degeneració neuronal progressiva. Així, els NFTs contribueixen significativament a la pèrdua de funcions cognitives i a la neurodegeneració característica de la malaltia d'Alzheimer [22–24].

1.2.2.3. Causes genètiques

Un dels factors genètics més significatius implicats en la malaltia d'Alzheimer està associat amb els al·lels que codifiquen per l'apolipoproteïna E (APOE). Aquest gen codifica per tres isoformes d'aquesta proteïna: APOE2, APOE3 i APOE4. Aquestes isoformes es diferencien en la seqüència d'aminoàcids en dues posicions concretes [25].

L'APOE té impacte a diferents nivells en la patogènesi de la malaltia d'Alzheimer, ja sigui un impacte relacionat amb el pèptid A β (causes amiloides) o bé relacionat amb altres causes no amiloides [26,27]:

Causas amiloides:

- Producció de pèptid A β : l'APOE influeix en la quantitat de pèptid A β produïda al cervell.
- Agregació de pèptid A β : aquesta proteïna APOE pot afavorir la formació de plaques amiloides, una característica clau de l'Alzheimer.
- Disminució de l'eliminació del pèptid A β : l'APOE4 és menys eficient en eliminar el pèptid A β del cervell, afavorint l'acumulació d'aquest pèptid.

Causas no amiloides:

- Tau: l'APOE4 pot augmentar la fosforilació de la proteïna tau, contribuint a la formació de cabdells neurofibril·lars.
- Augment de la neuroinflamació: l'APOE4 està associat amb una resposta inflamatòria més gran al cervell.
- Metabolisme lipídic: aquesta isoforma (APOE4) afecta el metabolisme dels lípids, important per a la salut neuronal.
- Plasticitat sinàptica: l'APOE4 pot reduir la capacitat de les neurones per formar i mantenir sinapsis, afectant la funció cognitiva.

És important destacar que l'APOE és essencial pel correcte funcionament del cervell, ja que té un paper clau en l'homeòstasi dels lípids cerebrals i la formació de sinapsis i per tant, l'eliminació completa d'aquesta proteïna provocaria nombroses alteracions.

Els estudis recents indiquen que els individus homozigots per l'al·lel APOE4 presenten nivells significativament més alts de biomarcadors d'Alzheimer (A β 42, t-tau i p-Tau) a partir dels 55 anys en comparació amb els homozigots per al gen APOE3. A l'edat de 65 anys, gairebé tots els homozigots APOE4 tenen nivells anormals d'amiloide en el líquid cerebrospinal, i el 75% mostren escàners d'amiloide positius [28].

Els homozigots APOE4 també experimenten l'aparició dels símptomes d'Alzheimer a una edat més primerenca, amb una mitjana de 65,1 anys en comparació a els 74 anys de mitjana en homozigots APOE3. Aquestes troballes suggereixen que els homozigots APOE4 constitueixen una forma genèticament determinada d'Alzheimer, amb una penetrància gairebé completa. Això significa que les persones amb aquesta variant genètica tenen una alta probabilitat de desenvolupar la malaltia i ho fan a una edat més primicera [28].

La comprensió detallada del paper del gen APOE4 en l'Alzheimer és fonamental per avançar en la investigació i el tractament d'aquesta malaltia. L'estudi d'aquest gen i les seves implicacions pot oferir noves perspectives per al desenvolupament de teràpies més efectives i, possiblement, també d'estratègies preventives (29,30).

1.2.2.4. *Neuroinflamació i la micròglia*

La neuroinflamació és un procés clau en la progressió de la malaltia d'Alzheimer. Inicialment la inflamació ajuda a defensar el cervell contra les lesions, però la seva activació prolongada té efectes negatius. La micròglia, les cèl·lules immunitàries del cervell, intenta eliminar les plaques de A β però quan s'activa persistentment, no pot fer-ho i segueix alliberant citocines pro-inflamatòries. Aquestes citocines causen danys a les connexions neuronals i dificulten la neteja de les plaques [31].

Les plaques de A β activen diversos receptors de la micròglia, iniciant una resposta inflamatòria. Aquest procés implica l'activació de inflammasomes i caspases, que alliberen més citocines inflammatòries. Això augmenta la producció de monòxid de nitrogen (NO), que agreuja els danys neuronals i promou la formació de plaques [32].

En l'Alzheimer, també s'ha detectat que es perd l'efecte inhibidor del neurotransmissor GABA sobre la micròglia, empitjorant la inflamació. Altres cèl·lules cerebrals, com les cèl·lules endotelials i els oligodendròcits, també contribueixen a la neuroinflamació. Tot i que les neurones tenen algunes molècules protectores contra la inflamació, aquestes defenses poden no ser suficients per contrarestar els efectes negatius en la malaltia d'Alzheimer [33].

1.2.2.5. *Pèrdua de connexions sinàptiques*

El sistema colinèrgic és essencial per a la cognició i s'ha reportat que es troba deteriorat en els pacients que tenen la malaltia d'Alzheimer. Les neurones colinèrgiques acumulen plaques amiloides i agregacions neurofibril·lars (NFTs) al nucli basal de Meynert. Aquest nucli és una part del cervell frontal basal que conté principalment neurones colinèrgiques que projecten els axons cap al mantell cortical, el tubercle olfactori i l'amígdala i principalment tenen una funcionalitat associada amb el control de l'atenció i el manteniment de l'excitació. Ambdues són funcions relacionades amb l'aprenentatge i la formació de memòries [34].

Les neurones d'aquest nucli degeneren a causa de la inflamació, empitjorant la cognició. Aquest dèficit altera la barrera hematoencefàlica, dificultant l'eliminació de les plaques amiloides.

També s'ha descrit que hi ha neurotransmissors que es troben afectats per la demència i que tenen papers rellevants en el sistema cognitiu. Per exemple, la noradrenalina és un neurotransmissor associat principalment al sistema cognitiu i degut a la degeneració de les neurones noradrenèrgiques, hi ha una pèrdua d'aquest sistema. Un altre neurotransmissor que es veu afectat en pacients amb Alzheimer és la serotonina, produïda principalment per les neurones serotoninèrgiques al tronc cerebral; el descens dels nivells de serotonina comporten un deteriorament de la formació de memòria [35].

El glutamat també és una molècula important en els sistemes cognitius cerebrals i un desequilibri en el metabolisme glutamat-glutamina causa excitotoxicitat, afectant als processos sinàptics [36].

Com s'ha mencionat anteriorment, les neurones GABAèrgiques també tenen un paper important en la malaltia, ja que la pèrdua del control inhibidor d'aquestes sobre les neurones colinèrgiques i glutamatèrgiques contribueix a lesions sinàptiques [37].

1.2.3. Diagnòstic i avaluació de l'Alzheimer

L'Alzheimer es diagnostica principalment amb proves en centres de salut que avaluen l'estat i fase de la demència. També s'utilitzen proves de laboratori per descartar altres causes, com la deficiència de vitamina B-12, i imatges cerebrals per avaluar la pèrdua de cèl·lules cerebrals, tot i que aquestes últimes no són habituals ja que els resultats poden estar influïts per l'edat del pacient [38,39].

Els criteris tradicionals per diagnosticar l'Alzheimer es basen en la detecció de la reducció de la capacitat cognitiva, però es necessiten criteris addicionals per identificar la malaltia en etapes primerenques. S'estan desenvolupant mètodes que detecten anomalies biològiques, com ara analitzar els nivells dels tres biomarcadors principals: A β 42 (beta-amiloide 42), t-tau (tau total) i p-tau (tau fosforilada).

Aquests biomarcadors són clau en la malaltia d'Alzheimer. L'A β 42 s'associa amb les plaques amiloides al cervell, mentre que nivells elevats de t-tau i p-tau estan relacionats amb la formació de cabdells neurofibril·lars. Nivells anormals d'aquestes molècules poden indicar futurs símptomes de demència, permetent un diagnòstic precoç i noves opcions terapèutiques abans que la malaltia s'agreugi [40].

Actualment la pràctica més comuna per detectar aquests biomarcadors és l'extracció de plasma o sèrum, ja que aquest mètode no és invasiu i permet obtenir i processar les mostres amb major facilitat [41].

També s'estan investigant mètodes complementaris, com la tomografia per emissió de positrons (PET) i la ressonància magnètica (MRI), per identificar canvis estructurals i funcionals en el cervell relacionats amb l'Alzheimer. Aquests mètodes, combinats amb la detecció de biomarcadors, poden augmentar la precisió del diagnòstic precoç de manera significativa [42].

Actualment hi ha 3 classificacions principals per valorar les fases de la malaltia:

- Classificació FAST (Functional assesment Staging):

La classificació FAST divideix els pacients amb Alzheimer en 7 fases principals, amb un detall especial en les fases finals que inclouen una progressiva pèrdua de les funcions bàsiques. A mesura que la malaltia avança hi ha un deteriorament continu que afecta inicialment les capacitats memorístiques i, més tard, les capacitats motores. Aquesta classificació també té en compte l'edat mental de la persona, la qual disminueix amb el temps. Recentment validada, la classificació FAST continua essent una eina eficaç per classificar les etapes del Alzheimer i altres demències, mostrant una alta correlació amb tests com el Korean- Mini Mental State Examination, el SIB-Ko (Korean-Severe Impairment Battery Test) i la classificació CDR (Clinical Demencia Rating) [43–45].

Per determinar la fase de la classificació FAST d'un pacient, la prova més comuna és el MMSE (Mini Mental State Examination de Folstein), àmpliament utilitzada internacionalment per mesurar el deteriorament cognitiu. Aquesta prova consisteix en una sèrie de preguntes que avaluen àrees com la memòria, l'orientació espai-temporal, el càlcul, el llenguatge i l'atenció. Es calcula una puntuació total sobre 30 punts, sent una puntuació més baixa indicativa d'un major deteriorament de les capacitats cognitives [46,47].

- Classificació GDS (Global Deterioration Scale)

L'escala de deteriorament global (GDS), coneguda com escala de Reisberg, és utilitzada per mesurar els diferents estadis de funció cognitiva en pacients amb demència primària com l'Alzheimer. L'escala consta de 7 nivells, amb els primers 3 considerats com a etapes de pre-demència i del nivell 4 en endavant com a estats de demència. Tot i que menys detallada que la classificació FAST, la GDS mostra simptomatologia compartida i reflecteix una major pèrdua de funcions cognitives amb nivells més alts [48–50].

Hi ha semblances entre les dues classificacions en estadis intermedis, amb gran pèrdua de la capacitat de relació social, i en estadis finals, amb pèrdua de les capacitats verbals i necessitat d'assistència per a les activitats diàries, degut a la deterioració de les habilitats psicomotores bàsiques [51].

Una diferència clau és que la GDS posa més èmfasi en la memòria i aspectes emocionals com la violència en els estadis finals, mentre que la classificació FAST se centra més en la pèrdua de les habilitats psicomotores com a indicador principal de les fases de demència severa [52].

- Classificació CDR (Clinical Demencia Rating)

La Classificació Clínica de la Demència de Huges (CDR) consisteix en una escala on es valoren 6 aspectes: memòria, orientació, judici i resolució de problemes, vida social, llar i aficions i la cura personal [53,54].

Cada factor es valora en una escala de 5 nivells de severitat, de menys a més [55].

A la majoria de classificacions analitzades anteriorment, la qualitat de vida dels pacients amb Alzheimer va disminuint a mesura que passa el temps fins que s'arriba un punt on els diagnosticats no poden realitzar cap activitat per si mateixos. Conseqüentment, els hi cal atenció permanent i en molts casos acaben ingressant en residències o centres especialitzats.

1.2.4. Mortalitat associada a la malaltia d'Alzheimer

La malaltia d'Alzheimer s'ha convertit en una preocupació mèdica creixent, amb una taxa de mortalitat en constant augment. Entre el 2000 i el 2021, mentre les morts per malalties cardiovasculars es van reduir en un 2.1% als Estats Units, les causades per Alzheimer van experimentar un alarmant increment del 141% [56].

L'increment del nombre de persones mortes per aquesta malaltia podria ser degut a dos factors importants: en primer lloc, que afecta especialment a persones d'edat avançada, de manera que la mortalitat també augmenta amb l'edat, i com que l'esperança de vida també ha augmentat, és comprensible que també les morts per Alzheimer hagin augmentat. En segon lloc, l'altre factor és que actualment hi ha més recursos per diagnosticar la malaltia, de manera que és més fàcil tenir en compte aquesta condició com a causa de mort.

Aquest augment de mortalitat es concentra principalment entre els adults majors de 65 anys. Les taxes de mortalitat han crescut notablement en aquest grup demogràfic, destacant especialment les persones de més de 85 anys, amb un augment del 86% en les morts per Alzheimer des del 2000. Els adults de 75 a 84 anys també han experimentat un augment del 54% en aquest mateix període [56,57].

A mesura que la malaltia avança, la qualitat de vida dels pacients disminueix dràsticament. Els efectes són palpables tant en la supervivència com en l'esperança de

vida. Els pacients diagnosticats als 60-70 anys tenen una mitjana de supervivència de 8.3 anys, mentre que per als diagnosticats després dels 90 anys, aquesta xifra es redueix a 3.4 anys. A més, es calcula que els pacients diagnosticats als 65 anys veuen reduïda la seva esperança de vida en un 67%, mentre que per als de 90 anys, aquesta reducció és del 39% [58].

Pel que fa al sexe hi ha estudis que no determinen diferències significatives en la supervivència de homes i dones, però d'altra banda hi ha estudis que determinen que hi ha fins a un 40% de risc de mortalitat en dones que en homes [59,60].

L'Alzheimer està molt associat amb la necessitat de cures en residències, degut a que el 75% dels pacients diagnosticats amb aquesta malaltia que arriben a l'edat de 80 anys estan en un d'aquests centres, comparat amb el 4% de la població general.

Aquesta tendència també és evident en grups d'edat més joves. Al voltant del 29% dels pacients amb Alzheimer als 74 anys necessiten cures en aquests centres, xifra que s'eleva al 48% per als pacients de 76 anys.

Per tant, es pot determinar que els pacients que desenvolupen la condició als 70 anys poden arribar a viure fins als 80 i de mitjana, d'aquests 10 anys, com a mínim 4 anys hauran de viure en algun d'aquests centres especialitzats per la cura de la gent gran [61,62].

1.2.5. Tractaments actuals contra l'Alzheimer

Actualment no hi ha cap cura contra l'Alzheimer tot i que hi ha alguns tractaments i medicaments aprovats per la Food and Drug Administration (FDA) dels Estats Units que actuen contra la malaltia per intentar disminuir la progressió d'aquesta, o bé medicaments que ajuden a combatre o alleujar-ne alguns símptomes [63].

Actualment l'únic medicament disponible que té com a objectiu disminuir la progressió de la malaltia d'Alzheimer és el Lecanemab (Leqembi™). Aquest és un anticòs monoclonal humanitzat que s'uneix amb alta afinitat a les plaques A β solubles, que són més tòxiques per a les neurones que les plaques insolubles. En reduir-se aquestes plaques, el Lecanemab pot retardar lleugerament el deteriorament de la memòria i el raonament, alentint així la progressió de la malaltia.

El Lecanemab està indicat per a persones en els estadis primerencs de la demència, és a dir, en fases de demència lleu o moderada. Aquests pacients es beneficien més de la teràpia perquè el tractament precoç pot ajudar a mantenir les funcions cognitives durant més temps.

Encara que el Lecanemab no cura la malaltia d'Alzheimer, la seva capacitat per reduir les plaques A β representa un avanç significatiu en el tractament d'aquesta malaltia neurodegenerativa [63,64].

Els medicaments que tenen com a objectiu alleujar la simptomatologia de la malaltia d'Alzheimer es classifiquen en 2 tipus principals [23,65,66]:

- 1) Medicaments Colinèrgics: són aquells que actuen com a inhibidors de l'acetilcolinesterasa, l'enzim responsable de la degradació de l'acetilcolina. Aquests medicaments es van desenvolupar basant-se en la hipòtesi colinèrgica, que proposa que una de les conseqüències de la malaltia d'Alzheimer és la reducció en la biosíntesi d'acetilcolina. Aquesta disminució dels nivells

d'acetilcolina contribueix al deteriorament de les neurones colinèrgiques, que són indispensables per a la funció cognitiva. Bloquejant els enzims que degraden l'acetilcolina, s'augmenten els seus nivells sinàptics, cosa que pot ajudar a millorar temporalment la transmissió colinèrgica i frenar el deteriorament cognitiu associat a la malaltia d'Alzheimer. Alguns exemples de medicaments que realitzen aquesta acció i que estan actualment aprovats per la FDA són el Donepezil, la Rivastigmina i la Galantamina. Aquest tipus de medicaments només són efectius en casos de demència lleu a moderada, és a dir, en la primeres fases de la malaltia.

- 2) Medicaments Glutamanèrgics: són aquells que actuen com a antagonistes dels receptors N-metil-D-aspartat (NMDAR). Aquests receptors, tenen un paper dominant en la fisiopatologia de la malaltia d'Alzheimer degut a que l'estimulació del NMDAR provoca l'entrada de Ca^{2+} , activant-se així la transducció de senyals; com a conseqüència s'inicia la transcripció gènica essencial per a la formació d'un potencial a llarg termini (LTP), el qual és important per a la neurotransmissió sinàptica, la plasticitat i la formació de la memòria. La sobreestimulació dels receptors NMDA provoca un nivell anormal de senyalització de Ca^{2+} i una sobreestimulació del glutamat, que és l'aminoàcid excitatori principal en el sistema nerviós central (SNC). Tot aquest procés resulta en excitotoxicitat, disfunció sinàptica, mort neuronal i un declivi en les funcions cognitives; S'han desenvolupat diversos antagonistes no competitiu dels receptors NMDA que han entrat en assajos clínics; no obstant això, la majoria han fracassat a causa de la baixa eficàcia i els efectes secundaris. La Memantina és l'únic fàrmac aprovat en aquesta categoria per tractar la malaltia d'Alzheimer i a diferència dels colinèrgics, només s'utilitzen en fases de demència moderada a severa.

Actualment s'està investigant la teràpia contra l'Alzheimer mitjançant tècniques de teràpia gènica, una aproximació prometedora però encara en fases primerenques d'investigació. Aquest treball presenta els estudis més rellevants que utilitzen aquesta tècnica per oferir una visió general dels avanços i reptes actuals.

2. Objectives

This study aims to conduct a comprehensive analysis of gene therapy approaches for Alzheimer's disease, with a focus on comparing various therapeutic pathways and administration routes. The scientific basis, safety, and practicality of different gene therapy approaches for this disease will be compared, focusing solely on viral administration routes. Insights into the mechanisms underlying these therapies and their potential implications for patient outcomes will be provided by thoroughly evaluating existing literature and clinical trials.

For each treatment, distinctions within viral delivery systems will be delineated, elucidating molecular mechanisms, targeting specificity, scalability, and regulatory considerations. This comparative analysis aims to inform clinical decision-making and shed light on the utility and feasibility of each approach.

3. Metodologia

Aquest treball s'ha realitzat mitjançant la cerca bibliogràfica en diferents bases de dades científiques, com ara PubMed, Google Scholar, Elsevier, ResearchGate o Science Direct. També s'han consultat pàgines web d'organitzacions especialitzades com la de

l'Organització Mundial de la Salut", la de l'Alzheimer's Association" i la "Sociedad Española de Terapia Génica y Celular", entre altres.

També s'han consultat diferents pàgines web especialitzades com ara "Clinical Trials" i "Veeva" per tal de extreure informació de les diferents teràpies que estan en fase experimental o completades actualment.

Aquesta cerca bibliogràfica es va dividir en dues etapes: inicialment es va fer una cerca més general sobre conceptes que ajudessin a la comprensió de la teràpia gènica i la malaltia de l'Alzheimer i posteriorment es va realitzar una cerca més especialitzada per tal de poder comprendre com funciona cada tractament de teràpia gènica desenvolupat per combatre la malaltia d'Alzheimer i poder-ne fer una comparació.

Principalment la cerca s'ha fet usant paraules clau en anglès i en castellà, ja que són les llengües predominants dels estudis sobre aquesta demència. Es van utilitzar les següents paraules clau: "Gene therapy", "Alzheimer's disease", "Demencia", "Neurodegenerative" i "Clinical trial" entre altres.

A més a més, com a criteris d'inclusió es van seleccionar articles publicats entre els anys 1988 i 2024.

4. Resultats i discussió

En la comparativa que s'ha realitzat en aquest estudi s'ha determinat que la majoria d'investigacions sobre tractaments que empren la teràpia gènica per combatre la malaltia de l'Alzheimer es duen a terme mitjançant empreses privades. Per tant, s'han classificat els diferents estudis amb el nom de l'empresa que els porta a terme per tal de realitzar la corresponent classificació, a excepció d'un estudi fet per una universitat, que porta per títol el nom de l'assaig.

La teràpia gènica és una de les tècniques més prometedores dels últims anys per tractar diferents tipus de malalties. En el cas de l'Alzheimer, com que s'han descrit diverses causes implicades en la progressió d'aquesta malaltia, es poden realitzar teràpies dirigides específicament a l'eliminació de proteïnes perjudicials pel sistema nerviós com poden ser la tau hiperfosforilada o les plaques A β , així com també es poden realitzar tractaments per potenciar les molècules implicades en la regulació del sistema nerviós.

Per tal de fer més clars i entenedors els resultats s'ha de tenir en compte que les següents teràpies es troben en diferents fases d'estudi, les quals es descriuen a continuació:

- Fase de descobriment: Aquesta és la fase més primerenca del desenvolupament d'un tractament o fàrmac. Inclou la investigació teòrica del mecanisme del fàrmac o teràpia, així com la comprovació de les hipòtesis plantejades en models cel·lulars [67].
- Fase preclínica: aquesta fase consta dels primers tests realitzats a un nou fàrmac per determinar si la hipòtesi plantejada pot resultar en un tractament eficaç i segur per a l'administració en pacients humans. La fase preclínica es pot classificar en dues parts:
 - o Experiments cel·lulars: aquests són els primers experiments que es realitzen i serveixen per veure si el tractament funciona. Es poden realitzar tant en cèl·lules humanes, com en cèl·lules animals.

- Experiments en animals: aquests experiments es realitzen posteriorment als experiments cel·lulars i defineixen en gran part la via més òptima d'administració, així com possibles efectes adversos greus que pugui provocar el tractament.

La fase preclínica és de vital importància tant per analitzar l'eficàcia del tractament com la seva seguretat. En cas que aquesta fase no sigui satisfactòria, no es pot passar a les següents fases, les clíniques.

- Fase clínica I: aquesta fase té com a principals objectius assegurar que el tractament és segur per als humans i establir les dosis màximes permeses. Consta d'un assaig amb entre 20 i 100 participants, els quals poden ser sans o tenir la malaltia. Té una durada de diversos mesos.
- Fase clínica II: aquesta fase té com a principals objectius testar l'eficàcia del tractament i identificar els efectes secundaris. Consisteix en un assaig amb centenars de persones que pateixen la malaltia a tractar. La durada de l'estudi pot ser des de diversos mesos fins a 2 anys, depenent del tractament i la malaltia a estudiar.
- Fase clínica III: aquesta fase clínica té com a objectius principals seguir demostrant l'eficàcia del tractament i monitoritzar les reaccions adverses a mitjà termini. Aquest assaig és multicèntric i es duu a terme amb entre 300 i 3000 voluntaris que tenen la malaltia. La durada d'aquesta fase pot ser d'1 a 4 anys.
- Fase clínica IV: aquesta fase clínica es duu a terme un cop ja s'ha aprovat el tractament per la FDA, en el cas dels Estats Units. A Europa, en canvi, l'aprovació prové de l'agència europea del medicament (EMA). Consisteix en un seguiment del tractament per tal d'avaluar els efectes a llarg termini. També es denomina fase de farmacovigilància i té en compte altres aspectes del tractament com la qualitat de vida dels pacients i la relació entre el cost i l'eficàcia [68].

4.1. Lexeo Therapeutics

La població homozigota pel gen APOE4 té un alt risc de patir la malaltia d'Alzheimer, a diferència de la població homozigota pel gen APOE2, que té el risc més baix. El gen APOE4 està associat amb l'acumulació accelerada de pèptid A β , un factor clau en el desenvolupament de l'Alzheimer. En canvi, el gen APOE2 té un efecte protector ja que redueix les senyals d'envelliment de les cèl·lules microgials, que són importants per a la resposta immune del cervell [69].

Actualment s'estan desenvolupant teràpies gèniques per combatre l'Alzheimer, centrant-se en la modificació del gen APOE4 per reduir el risc associat. L'empresa Lexeo Therapeutics lidera els estudis més rellevants en aquest camp, amb tres programes en marxa per tractar pacients homozigots pel gen APOE4, substituint la seva acció per la del gen APOE2. Aquests programes busquen reduir l'acumulació de pèptid A β i proporcionar un efecte protector gràcies al gen APOE2 [70,71].

4.1.1. Teràpia gènica LX1001

Aquesta teràpia gènica utilitza un vector de virus adeno-associat (AAV) de serotip rh.10 que expressa l'àcid desoxiribonucleic complementari (cDNA) que codifica l'apolipoproteïna E2 humana (APOE2). El vector AAVrh.10-APOE2 s'administra directament al conducte vertebral per tal d'arribar al sistema nerviós central dels pacients homozigots per APOE4 amb Alzheimer.

L'objectiu d'aquest tractament és augmentar l'expressió de l'APOE2 en les cèl·lules de la micròglia per contrarestar els efectes patològics de l'APOE4 (Figura 2).

LX1001 MECHANISM



Figura 2. Dibuix que representa el funcionament de la teràpia de Lexeo LX1001 i l'objectiu del canvi de genotip de la micròglia dels homozigots del gen APOE4 al gen APOE2. Imatge extreta de [70].

En la fase preclínica d'aquest tractament, el vector AAVrh.10-APOE2 va ser provat en ratolins modificats genèticament per expressar APP, PS1 i APOE4. El vector es va alliberar mitjançant una punció intracerebral, observant-se una alta expressió del gen APOE2 i una reducció dels nivells d'acumulació del pèptid Aβ. Els resultats van mostrar que iniciar la teràpia abans de l'acumulació del pèptid millorava els resultats, destacant la importància del diagnòstic precoç [72].

Es van realitzar proves en primats per determinar la via d'administració més eficaç. Es va subministrar el vector per via intraparenquimàtica, intracisternal o intraventricular, determinant-se que la via intracisternal era la més segura i amb major expressió del gen APOE2 [73].

El LX1001 va iniciar l'estudi el 2019, establint les condicions de l'experiment i els criteris de selecció dels voluntaris. Es van seleccionar 15 pacients, distribuïts en 4 grups, que es mostren a continuació, per determinar la dosi efectiva del tractament:

- Grup 1: $1,4 \times 10^{10} \frac{gc^*}{ml}$ CSF de LX1001
- Grup 2: $4,4 \times 10^{10} \frac{gc^*}{ml}$ CSF de LX1001
- Grup 3: $1,4 \times 10^{11} \frac{gc^*}{ml}$ CSF de LX1001
- Grup 4: $1,4 \times 10^{14} \frac{gc^*}{ml}$ CSF de LX1001

*Gc/ml: còpies de gen per ml estimat de líquid cerebroespinal

Els voluntaris escollits per participar en l'assaig clínic eren persones amb 2 al·lels del gen APOE4, amb acumulació de pèptid Aβ i demència en fase moderada [74].

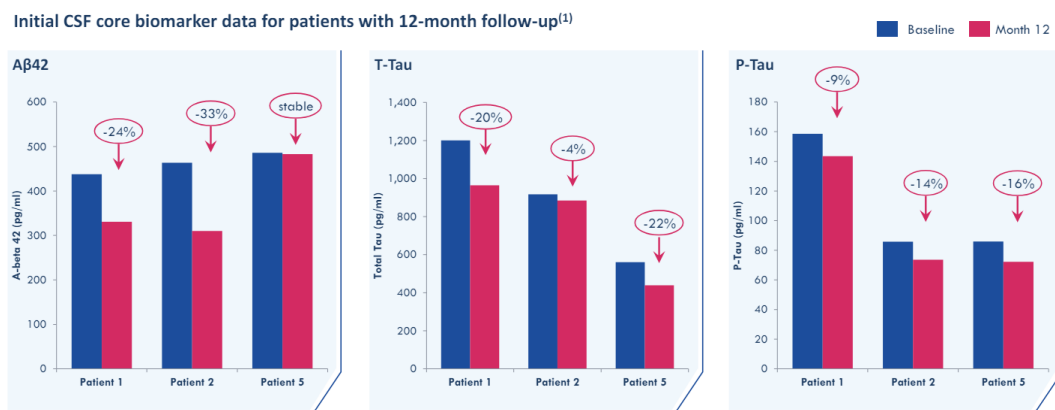
El tractament consisteix en una única administració de la dosi corresponent a cada grup, seguida d'un seguiment durant un any per establir la dosi màxima tolerada i determinar si l'APOE2 apareix en el líquid cerebroespinal [71].

El març de 2022, Lexeo va anunciar els resultats preliminars del grup amb la dosi més baixa. Segons el comunicat de premsa, la proteïna APOE2 era detectable en el líquid cerebroespinal (CSF) després de tres mesos en els quatre participants de la cohort, i després d'un any, en els dos que van arribar a aquest punt. En aquests dos participants els nivells de tau total i tau fosforilada van

disminuir respecte al nivell inicial després d'un any. No es van reportar esdeveniments adversos greus. A la conferència Clinical Trials on Alzheimer's Disease (CTAD) 2022 es van presentar dades d'un participant addicional, que també va mostrar una expressió similar de l'APOE2 després d'un any i una disminució dels nivells de tau total i tau fosforilada. No es van observar esdeveniments adversos greus en aquest grup ni en el grup de dosi mitjana, que va rebre el triple de la dosi.

Actualment, el LX1001 es troba en fase clínica I/II gràcies a la llicència de Fast Track concedida per la FDA. L'administració del tractament per l'últim grup es va realitzar al novembre de 2023, i s'espera que la fase clínica I/II finalitzi a finals de 2024 o principis de 2025. Es durà a terme un seguiment fins a 2028, mesurant diferents biomarcadors. Durant aquest període, es preveu completar les fases II/III i començar a administrar la teràpia a pacients homozigots per APOE4 amb Alzheimer [75].

A principis de juny de 2024 es van publicar els resultats inicials de les fases clíniques del grup amb la menor concentració del vector, que ja s'havien anunciat de manera preliminar l'any 2022. En aquests resultats es va observar una reducció de tau total i de tau hiperfosforilada en el fluid cerebrospinal de 3 pacients. A més, en 2 d'aquests 3 pacients també es va detectar una reducció



del pèptid Aβ42.

Figura 3. Gràfic que representa els resultats de 3 pacients tractats amb la menor concentració del vector. Al primer gràfic (d'esquerra a dreta) es pot observar com hi ha una reducció de la concentració de Aβ42 dels 2 primers pacients; al segon gràfic s'observa com disminueix la concentració de tau total i a l'últim gràfic s'observa com hi ha una disminució de la concentració de tau. Gràfic extret de [76].

4.1.2. Teràpia gènica LX1021

La teràpia gènica LX1021 es troba actualment en fases preclíniques i utilitza un mecanisme similar al de la teràpia LX1001. Tanmateix, en aquest cas, el vector transporta una variant modificada del gen APOE2, coneguda com la mutació de Christchurch.

La mutació de Christchurch és una isoforma de l'apolipoproteïna E, descoberta per primer cop a Colòmbia. Es va identificar en una dona anomenada Aliria Rosa Piedrahita de Villegas, qui, tot i ser portadora d'una variant del gen PSEN-1 (gen causant de Alzheimer degut a herència familiar), no va desenvolupar símptomes

de demència malaltia fins als 72 anys. Les investigacions van revelar que tenia una mutació protectora en el gen APOE, coneguda com APOE R154S (Christchurch).

La mutació de Christchurch té un efecte protector contra l'Alzheimer perquè prevé l'acumulació de cabdells de tau hiperfosforilada, una de les principals causes de la malaltia, i també associada amb la mort cel·lular. Aquesta característica fa que la teràpia LX1021 tingui el potencial d'alentir la progressió de la demència en pacients amb Alzheimer [77–79].



Figura 4. Esquema que representa el funcionament de la teràpia de Lexeo LX1021 i l'objectiu del canvi de genotip de la micròglia dels homozigots del gen APOE4 al gen APOE2 amb la mutació Christchurch. Imatge extreta de [70].

Actualment no hi ha estudis publicats específicament sobre la teràpia LX1021, ja que es troba en fase preclínica. No obstant això, hi ha estudis que investiguen els efectes de la mutació de Christchurch en models animals i cel·lulars.

Així doncs, s'han realitzat estudis amb ratolins humanitzats que contenen el gen APOE3 amb la mutació de Christchurch (APOE3ch). Aquests ratolins van ser encruats amb un model de ratolí predisposat a la deposició de plaques d'Aβ. Posteriorment, se'ls va injectar extracte de cervell amb alt contingut de tau hiperfosforilada. Els resultats van mostrar que la mutació APOE3ch modula la resposta de la micròglia contra les plaques d'Aβ, suprimint la propagació i formació de cabdells de tau hiperfosforilada [80].

Un altre estudi va utilitzar cèl·lules mare humanes pluripotents amb la variant APOE3ch de manera homozigota. Aquestes cèl·lules es van diferenciar en astròcits i es va analitzar la seva resposta amb la mutació de Christchurch. Es va observar que aquests astròcits presentaven propietats protectores contra l'Alzheimer, com ara la resistència a entrar en estat reactiu i la mitigació efectiva de la propagació de tau dins les neurones [81].

Aquests estudis preclínic suggereixen que la mutació de Christchurch pot tenir un efecte protector contra l'Alzheimer, proporcionant una base prometedora per a la futura aplicació clínica de la teràpia LX1021.

4.1.3. Teràpia gènica LX1020

La teràpia gènica LX1020 es troba en fases molt primerenques de desenvolupament. Aquesta teràpia és una versió millorada de la LX1001 i pretén administrar un vector que porti el gen APOE2 juntament amb un microRNA (miRNA) inhibitori per al gen APOE4. Això permetria convertir el gen APOE4 a APOE2 en un grau més gran, maximitzant així l'efecte terapèutic.



Figura 5. Esquema representatiu del funcionament de la teràpia de Lexeo LX1020, que té com a objectiu el canvi de genotip de la micròglia dels homozigots del gen APOE4 al gen APOE2 i la supressió del gen APOE4 mitjançant un microRNA complementari. Imatge extreta de [70].

El model LX1020 està en fase d'experimentació i s'han d'avaluar els possibles efectes secundaris associats a la inhibició amb el miRNA. També és crucial esperar els resultats finals del tractament LX1001 per assegurar la seva seguretat abans de procedir amb la versió millorada LX1020.

Aquest enfocament permetria augmentar l'eficàcia de la teràpia al combatre de manera més efectiva els efectes patològics del gen APOE4 i potenciar els beneficis del gen APOE2 [82].

4.2. **Voyager Therapeutics**

4.2.1. Teràpia gènica "Tau knock-down"

La teràpia gènica "Tau knock-down" té com a objectiu reduir l'expressió de la proteïna tau en el sistema nerviós central, cabdal per al tractament de la malaltia d'Alzheimer. Aquesta teràpia s'administra per via intravenosa utilitzant un vector de virus adeno-associat (AAV) amb càpsida tipus C9P39 que conté un microRNA primari artificial (pri-amiRNA). Aquest pri-amiRNA hibrida amb l'RNA missatger (mRNA) que codifica la tau, fent que l'organisme reconegui i elimini aquest fragment de RNA de cadena doble.

Aquest procés provoca una reducció de la concentració de la proteïna tau sintetitzada, disminuint així la formació de cabdells neurofibril·lars de tau hiperfosforilada, que són responsables de la mort neuronal. En conseqüència, aquesta reducció de la tau patològica es traduirà en una prevenció de la mort neuronal i un endarreriment de la progressió de la malaltia d'Alzheimer, millorant potencialment la qualitat de vida dels pacients [83].

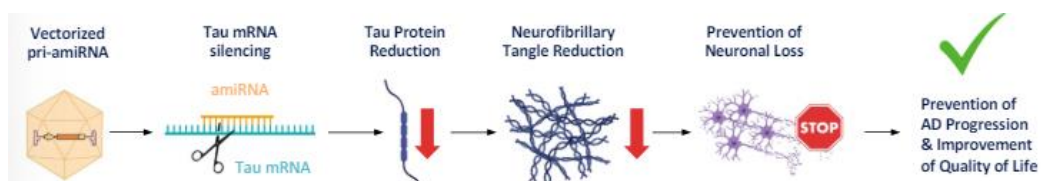


Figura 6. Esquema que representa el funcionament de la Teràpia gènica “Tau knock-down” amb l’objectiu de reduir l’expressió de la proteïna tau mitjançant un amiRNA complementari per tal de prevenir la pèrdua neuronal i incrementar la qualitat de vida dels pacients amb Alzheimer. Imatge extreta de [84].

Actualment aquesta teràpia es troba en les fases finals de la investigació preclínica (“late research”) i està previst que comenci la fase de “investigational new drug” (IND) el 2026. Aquesta fase és determinant perquè precedeix les proves en humans i implica l’avaluació exhaustiva dels riscos i les propietats toxicològiques del tractament. Si té èxit, la IND marcarà un avanç significatiu en el desenvolupament d’aquesta teràpia gènica, apropant-la un pas més cap a la seva aplicació clínica per tractar la malaltia d’Alzheimer [84].

4.3. Teràpia gènica AAV2-BDNF

La teràpia gènica mitjançant l’augment de l’expressió de factors neurotròfics derivats del cervell (BDNF) és una estratègia prometedora per prevenir la pèrdua de cèl·lules cerebrals deguda a la malaltia d’Alzheimer i altres demències.

Els BDNF són pèptids de la família de les neurotrofines, essencials per a la supervivència i el creixement neuronal. A més, exerceixen una funció de neurotransmissor modulador i participen en la plasticitat neuronal, un procés indispensable per l’aprenentatge i la memòria [85]. En el context de l’Alzheimer, aquests factors tenen un paper clau perquè donen suport a les neurones existents i fomenten el creixement i diferenciació de noves neurones. També intervenen en la sinapsi, fent que aquesta es reforci o es debiliti amb el temps, contribuint a la plasticitat sinàptica [86].

Els BDNF també protegeixen contra les característiques patològiques de l’Alzheimer, com la formació de plaques amiloides i els cabdells de tau hiperfosforilada. Això ho fan regulant les vies implicades en la producció i eliminació del pèptid A β i la fosforilació de la tau. Per tant, uns nivells baixos de BDNF poden provocar una funció sinàptica deteriorada, mort neuronal i, conseqüentment, un deteriorament i dèficit cognitiu.

La teràpia gènica AAV2-BDNF té com a objectiu augmentar l’expressió d’aquests factors mitjançant l’administració de vectors virals adeno-associats que contenen el gen humà per a la BDNF. Aquesta administració es realitza a l’escorça entorrinal i a l’hipocamp, les principals àrees del cervell on hi ha una major pèrdua de connexions neuronals en la malaltia d’Alzheimer [87].

Aquesta teràpia es basa en una recerca anterior on, en comptes d’estimular la producció de BDNF, s’estimulava la producció de factors de creixement neuronal (NGF) [88]. Tot i que els resultats foren satisfactoris, la millora del creixement neuronal no era suficient per tractar una malaltia neurodegenerativa com l’Alzheimer. Actualment, amb l’administració dels vectors amb BDNF, s’espera que el creixement neuronal sigui molt superior al obtingut amb NGF [89].

Durant les fases preclíniques s’han realitzat estudis amb ratolins transgènics que expressaven dues molècules amiloides precursors (APP) i que van ser tractats amb BDNF a l’escorça entorrinal. Es va observar que el tractament amb BDNF mitjançant vectors AAV millorava la sinapsi i la resposta cognitiva depenent de l’hipocamp, tot i que no afectava el nombre de plaques amiloides. Això va permetre determinar que

no és necessària la disminució de les plaques amiloides per aconseguir beneficis neuroprotectors [90].

Aquesta fase clínica actualment s'està duent a terme a la Universitat de Califòrnia per l'equip de recerca del Dr. Mark Tuszynski, el mateix equip que va realitzar l'estudi anterior a aquest on s'avaluava l'efecte de l'estimulació dels NGF [91].

A dia d'avui l'estudi AAV2-BDNF es troba en la fase clínica, i més concretament, en període de reclutament de 6 pacients amb Alzheimer lleu i 6 pacients amb defectes cognitius lleus per dur a terme la primera fase clínica. Aquesta fase consistirà en una cirurgia guiada per MRI per administrar el vector AAV2-BDNF a l'escorça entorrinal, seguida d'una observació dels voluntaris durant 2 anys per analitzar els resultats. Es preveu que aquest estudi acabi el primer període de reclutament a finals de 2025, moment en què es començarà a administrar el vector als voluntaris i es preveu que es publicaran els resultats a finals de 2027 [91].

4.4. **Passage Bio**

4.4.1. Teràpia gènica PBFT02

La teràpia PBFT02 té com a objectiu augmentar la producció de progranulina (PGRN), una proteïna essencial per al cervell. La PGRN, codificada pel gen GRN, és indispensable per al desenvolupament, la supervivència i el manteniment de les neurones i la micròglia en mamífers. També regula la inflamació del cervell, inhibint els receptors inflamatoris associats a la malaltia d'Alzheimer. A més, té efectes neuroprotectors que ajuden a prevenir la mort neuronal i està implicada en la regulació dels dipòsits de pèptid A β , característics de l'Alzheimer [92].

Les mutacions en el gen GRN són una causa important de malalties com la demència frontotemporal (DFT) i també tenen relació amb la malaltia de Parkinson. Per abordar aquestes condicions, Passage Bio està desenvolupant la teràpia gènica PBT02 per tractar la demència frontotemporal, l'esclerosi lateral amiotròfica i l'Alzheimer [93].

Aquesta teràpia PBFT02 utilitza un vector viral adeno-associat (AAV1) que conté un gen funcional GRN, administrat directament al fluid cerebroespinal mitjançant una única injecció a la cisterna magna (ICM). L'objectiu és augmentar els nivells de PGRN en el sistema nerviós per contrarestar la deficiència de progranulina causada per mutacions del gen GRN.

Durant les fases preclíniques s'han dut a terme diversos estudis per avaluar l'eficàcia i la seguretat de la teràpia gènica amb PBT02. Aquests estudis han inclòs experiments amb models animals, com ara ratolins i primats no humans, per observar com la teràpia afecta els nivells de progranulina i la salut del cervell.

En experiments amb ratolins deficients en progranulina es van injectar vectors virals adeno-associats que contenien el gen GRN (AAV-GRN). Els resultats van mostrar un augment significatiu dels nivells de PGRN tant en el cervell com en el fluid cerebroespinal dels ratolins. Aquest augment va estar acompanyat per una normalització de les funcions dels lisosomes, que són òrgans cel·lulars responsables de la degradació i reciclatge de substàncies. A més, es va observar

una reducció de la microglia, un procés inflamatori que implica l'activació excessiva de les cèl·lules microgials, que pot ser perjudicial per a les neurones [94].

L'estudi del Dr.Hinderer [94] va investigar quin serotip de vector viral adeno-associat era el més òptim per a l'administració del gen GRN. Es va determinar que el serotip AAV1 proporcionava una expressió de progranulina més alta en comparació amb altres serotips com AAV5 i AAV9. Aquest resultat va ser important per seleccionar el vector més eficaç per a la teràpia.

A més dels experiments amb ratolins, també es van realitzar estudis amb primats no humans per assegurar que l'administració del vector AAV1 era segura i no provocava toxicitat. Els resultats van demostrar que no hi havia una dosi límit de toxicitat, cosa que indicava que el vector podia ser administrat de manera segura en dosis elevades sense causar efectes adversos significatius [94].

Actualment la teràpia es troba en diferents fases clíniques segons la malaltia. Per a la demència frontotemporal, està en fase clínica I/II. Per a l'esclerosi lateral amiotròfica, s'ha completat la fase preclínica i s'està iniciant la fase clínica. Per a l'Alzheimer, les fases preclíniques encara estan en curs, però amb resultats prometedors [95].

Les diferents fases clíniques i preclíniques per les diferents malalties es troben en fase de reclutament de voluntaris. Aquests seran organitzats, en un principi en 2 grups, als quals els hi seran administrades 2 concentracions diferents del vector. Depenent dels resultats d'aquests 2 grups es realitzarà un tercer grup amb una altra concentració de vector:

- Grup 1: $3,3 \times 10^{10} \frac{gc^{**}}{g}$ de PBFT02
- Grup 2: $1,1 \times 10^{11} \frac{gc^{**}}{g}$ de PBFT02
- Grup 3 (Opcional): $2,2 \times 10^{11} \frac{gc^{**}}{g}$ de PBFT02

**Gc/g: còpies de gen per g de pes cerebral estimat.

Als voluntaris que participin en l'assaig se'ls farà un seguiment de 5 anys, que es distribuirà en 2 anys per l'estudi principal i 3 més per qüestions de seguretat. Està previst que a finals de 2024 acabi la fase de reclutament i ja es puguin administrar les dosis als diferents grups i a finals de 2027 ja s'hagin pogut observar els resultats d'aquest estudi [96].

4.5. Anàlisi comparativa de les diferents teràpies gèniques per tractar la malaltia d'Alzheimer

Tal i com es pot observar a la taula 1, en les diferents teràpies presentades, el vector predominant per aplicar la teràpia gènica viral és el virus Adenoassociat (AAV), probablement degut a la seva baixa patogenicitat, la capacitat d'orientació específica a determinats grups cel·lulars o la facilitat de producció d'aquest vector, entre altres característiques. [97]

La majoria dels tractaments de teràpia gènica viral tenen com a objectiu combatre l'Alzheimer mitjançant l'autofàgia, es a dir s'utilitzen tècniques que permeten optimitzar i potenciar les vies del propi sistema immunitari del propi

pacient per tal d'eliminar les conformacions patològiques com les plaques A β i els NFT.

Concretament, les tres primeres aproximacions terapèutiques que es mostren a la taula 1 (Teràpia gènica LX 1001, Teràpia gènica LX 1021 i Teràpia gènica LX 1020) corregeixen el genoma de les cèl·lules de la micròglia en individus homozigots pel gen APOE4, mentre que altres aproximacions terapèutiques busquen promoure l'estimulació de la producció de molècules deficientes en el sistema nerviós, com el BDNF o la progranulina. Només en un cas, el de la teràpia gènica "Tau knock-down", l'objectiu de la teràpia és el de acabar directament amb la molècula patològica.

La via d'administració és un factor que només es determina en les teràpies en fases d'estudi més avançades. En les teràpies exposades cal destacar que en 3 d'aquestes es requereix d'una actuació quirúrgica degut a que s'administra el vector directament al cervell (Teràpia gènica LX1001, Teràpia gènica AAV2-BDNF i Teràpia gènica PBFT02). En canvi en la teràpia de Voyager Therapeutics, l'administració és intravenosa; per tant es tracta d'una via no invasiva la qual facilitaria el subministrament als pacients. En aquest aspecte, la utilització de vectors virals adenoassociats és un punt clau degut a que aquests són més capaços de superar barreres fisiològiques com la barrera hematoencefàlica, a diferència dels altres tipus de vectors virals i dels vectors no virals .

La teràpia gènica viral és una tècnica molt recent la qual es troba en fases primerenques, tal i com es pot observar a la taula 1. Tres estudis es troben en fases preclíniques (Teràpia gènica LX1021, Teràpia gènica "Tau knock-down" i Teràpia gènica PBFT02), 2 es troben en fase clínica I o a finals d'aquesta (Teràpia gènica LX1001, Teràpia gènica AAV2-BDNF) i una es troba en fase de desenvolupament (Teràpia gènica LX1020).

Taula 1. Taula comparativa de les diferents teràpies gèniques descrites a l'apartat de resultats del treball on es comparen diversos aspectes com el tipus de vector i la seqüència portada, l'objectiu del tractament, la via d'administració i la fase en què es troba l'assaig.

Nom de l'estudi	Empresa o grup de recerca	Tipus vectorial i seqüència transportada	Objectiu del tractament	Via d'administració	Fase de l'assaig
Teràpia gènica LX1001	Lexeo Therapeutics	- Tipus de vector: AAVrh10 - Seqüència transportada: APOE2	Augmentar l'expressió d'APOE2 a les cèl·lules microglials per contrarestar els efectes patògens d'APOE4	Canal vertebral	Fase clínica I/II
Teràpia gènica LX1021	Lexeo Therapeutics	- Tipus de vector: AAVrh10 - Seqüència portada: APOE2 Christchurch	Augmentar l'expressió del gen APOE2 christchurch a les cèl·lules microglials per contrarestar els efectes patògens d'APOE4	-	Fase preclínica
Teràpia gènica LX1020	Lexeo Therapeutics	- Tipus de vector: - - Seqüència transportada: APOE2 + miRNA anti-APOE4	Augmentar l'expressió del gen APOE2 a les cèl·lules de la micròglia i silenciar el gen APOE4 per contrarestar els seus efectes patògens	-	Fase de desenvolupament
Teràpia gènica "Tau knock-down".	Voyager Therapeutics	- Tipus de vector: càpsida AAV C9P39 - Seqüència transportada: pri-amiRNA anti-tau	Reduir l'expressió de la proteïna tau	Via intravenosa	Fases preclíniques finals "Recerca tardana"
Teràpia gènica AAV2-BDNF	Mark Tuszynski, University of California, San Diego	- Tipus de vector: AAV2 - Seqüència transportada: gen que codifica per BDNF	Potenciar la producció de BDNF	Escorça entorrinal i hipocamp	Fase clínica I
Teràpia gènica PBFT02	Passage Bio	- Tipus de vector: AAV1 - Seqüència transportada: gen GRN	Augmentar la producció de progranulina	Líquid cefaloraquídi mitjançant una injecció a la cisterna magna (ICM).	Fases preclíniques

5. Conclusions

This study undertook a comprehensive analysis of gene therapy approaches for Alzheimer's disease, focusing on the comparison of various therapeutic pathways and viral administration routes. The evaluation covered scientific foundations, safety profiles, and practicality of different gene therapy methods. So that, the main conclusions are:

- The use of biomarkers is important for evaluating the efficacy of viral gene therapies to combat Alzheimer's disease.
- The therapeutic targets of treatments using gene therapy are focused on enhancing microglia and the protective functions of neuronal connections to reduce their disruption.
- To combat Alzheimer's disease through viral gene therapy, different approaches are used. While the "Tau knock-down" gene therapy aims to reduce the expression of the tau protein, the gene therapies LX 1001, LX 1021, and LX 1020 seek to increase the expression of the APOE2 gene to counteract the pathogenic effects of APOE4 homozygotes, and the AVV2-BDNF gene therapy enhances the production of BDNF; finally, the PBFT02 gene therapy aims to increase the production of progranulin.
- The most used vector in viral gene therapies for treating Alzheimer's is the adeno-associated virus, which is notable for its safety, specificity, and ability to cross anatomical barriers.
- The studies analysed in this work are in different stages of development, most of which are in preclinical, and none has surpassed yet the second clinical phase. This is because viral gene therapy is a very recent approach to combat the disease.
- The findings aim to inform clinical decision-making, highlighting the utility and feasibility of each approach while underscoring the need for continued research and development in this promising field.

6. Bibliografia

1. Lesné S, Koh MT, Kotilinek L, Kaye R, Glabe CG, Yang A, et al. A specific amyloid- β protein assembly in the brain impairs memory. *Nature*. març 2006;440(7082):352-7.
2. Memi F, Ntokou A, Papangeli I. CRISPR/Cas9 gene-editing: Research technologies, clinical applications and ethical considerations. *Semin Perinatol*. 1 desembre 2018;42(8):487-500.
3. Nayerossadat N, Maedeh T, Ali PA. Viral and nonviral delivery systems for gene delivery. *Adv Biomed Res*. 6 juliol 2012;1:27.
4. Rozalén J, Ceña V, Jordán J. Terapia génica. Vectores de expresión. *Offarm*. 1 setembre 2003;22(8):102-8.
5. Gene Therapy [Internet]. [citat 15 maig 2024]. Disponible a: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Gene-Therapy>
6. SETGYC [Internet]. [citat 25 abril 2024]. Home. Disponible a: <https://www.setgyc.es>
7. Somatic Gene Therapy - an overview | ScienceDirect Topics [Internet]. [citat 18 octubre 2023]. Disponible a: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/somatic-gene-therapy>

8. Sýkora P. Chapter 11 Germline Gene Therapy in the Era of Precise Genome Editing: How Far Should We Go? En: Soniewicka M, editor. *The Ethics of Reproductive Genetics: Between Utility, Principles, and Virtues* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2018 [citat 19 octubre 2023]. p. 157-71. (Philosophy and Medicine). Disponible a: https://doi.org/10.1007/978-3-319-60684-2_11
9. National Institute on Aging [Internet]. 2021 [citat 29 abril 2024]. What Is Alzheimer's Disease? Disponible a: <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-and-dementia/what-alzheimers-disease>
10. Alzheimer Society of Canada [Internet]. [citat 8 maig 2024]. The history behind Alzheimer's disease. Disponible a: <https://alzheimer.ca/en/about-dementia/what-alzheimers-disease/history-behind-alzheimers-disease>
11. Yang HD, Kim DH, Lee SB, Young LD. History of Alzheimer's Disease. *Dement Neurocognitive Disord.* desembre 2016;15(4):115-21.
12. Dementia [Internet]. [citat 29 abril 2024]. Disponible a: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
13. World-Alzheimer-Report-2023.pdf [Internet]. [citat 29 abril 2024]. Disponible a: <https://www.alzint.org/u/World-Alzheimer-Report-2023.pdf>
14. Xie H. The inhibitory activities of constituents of the three main categories in ginkgo biloba towards amyloidi- β peptide aggregation. En 2014 [citat 25 juny 2024]. Disponible a: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-inhibitory-activities-of-constituents-of-the-in-Xie/2e2d05cadcfceedd8e9d2075e910960da756bb7c/figure/0>
15. Pearson HA, Peers C. Physiological roles for amyloid β peptides. *J Physiol.* 15 agost 2006;575(Pt 1):5-10.
16. Yoon SS, AhnJo SM. Mechanisms of Amyloid- β Peptide Clearance: Potential Therapeutic Targets for Alzheimer's Disease. *Biomol Ther.* 2012;20(3):245-55.
17. Andrew RJ, Kellett KAB, Wang S, Hooper NM. A Greek Tragedy: The Growing Complexity of Alzheimer Amyloid Precursor Protein Proteolysis. *J Biol Chem* [Internet]. 2016 [citat 19 juny 2024];291(37). Disponible a: <https://doi.org/10.1074/jbc.r116.746032>
18. Moehlmann T, Winkler E, Xia X, Edbauer D, Murrell J, Capell A, et al. Presenilin-1 mutations of leucine 166 equally affect the generation of the Notch and APP intracellular domains independent of their effect on Abeta 42 production. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 11 juny 2002;99(12):8025-30.
19. Gouras GK, Olsson TT, Hansson O. β -amyloid Peptides and Amyloid Plaques in Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics.* gener 2015;12(1):3-11.
20. Murphy MP, LeVine H. Alzheimer's Disease and the β -Amyloid Peptide. *J Alzheimers Dis JAD.* gener 2010;19(1):311.
21. Nizynski B, Dzwolak W, Nieznanski K. Amyloidogenesis of Tau protein. *Protein Sci Publ Protein Soc.* novembre 2017;26(11):2126-50.
22. Brion JP. Neurofibrillary tangles and Alzheimer's disease. *Eur Neurol.* octubre 1998;40(3):130-40.
23. Khan S, Barve KH, Kumar MS. Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease. *Curr Neuropharmacol.* novembre 2020;18(11):1106-25.

24. Metaxas A, Kempf SJ. Neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease: elucidation of the molecular mechanism by immunohistochemistry and tau protein phospho-proteomics. *Neural Regen Res.* octubre 2016;11(10):1579-81.
25. DiBattista AM, Heinsinger NM, Rebeck GW. Alzheimer's Disease Genetic Risk Factor APOE-ε4 Also Affects Normal Brain Function. *Curr Alzheimer Res.* 2016;13(11):1200-7.
26. Liu CC, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms, and therapy. *Nat Rev Neurol.* febrer 2013;9(2):106-18.
27. Uddin MdS, Kabir MdT, Al Mamun A, Abdel-Daim MM, Barreto GE, Ashraf GM. APOE and Alzheimer's Disease: Evidence Mounts that Targeting APOE4 may Combat Alzheimer's Pathogenesis. *Mol Neurobiol.* abril 2019;56(4):2450-65.
28. Fortea J, Pegueroles J, Alcolea D, Belbin O, Dols-Icardo O, Vaqué-Alcázar L, et al. APOE4 homozygosity represents a distinct genetic form of Alzheimer's disease. *Nat Med.* 6 maig 2024;1-8.
29. National Institute on Aging [Internet]. 2023 [citat 16 maig 2024]. Alzheimer's Disease Genetics Fact Sheet. Disponible a: <https://www.nia.nih.gov/health/genetics-and-family-history/alzheimers-disease-genetics-fact-sheet>
30. Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited - ScienceDirect [Internet]. [citat 16 maig 2024]. Disponible a: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1552526016000790?via%3Dihub>
31. Heneka MT, Golenbock DT, Latz E. Innate immunity in Alzheimer's disease. *Nat Immunol.* març 2015;16(3):229-36.
32. Heppner FL, Ransohoff RM, Becher B. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci.* juny 2015;16(6):358-72.
33. Kinney JW, Bemiller SM, Murtishaw AS, Leisgang AM, Salazar AM, Lamb BT. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement Transl Res Clin Interv.* 6 setembre 2018;4:575-90.
34. Koulousakis P, Andrade P, Visser-Vandewalle V, Sesia T. The Nucleus Basalis of Meynert and Its Role in Deep Brain Stimulation for Cognitive Disorders: A Historical Perspective. *J Alzheimers Dis JAD.* 2019;69(4):905-19.
35. Hampel H, Mesulam MM, Cuello AC, Farlow MR, Giacobini E, Grossberg GT, et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain.* juliol 2018;141(7):1917-33.
36. Vakalopoulos C. Alzheimer's Disease: The Alternative Serotonergic Hypothesis of Cognitive Decline. *J Alzheimers Dis JAD.* 2017;60(3):859-66.
37. Yun HM, Park KR, Kim EC, Kim S, Hong JT. Serotonin 6 receptor controls alzheimer's disease and depression. *Oncotarget.* 22 setembre 2015;6(29):26716-28.
38. National Institute on Aging [Internet]. 2022 [citat 13 maig 2024]. How Is Alzheimer's Disease Diagnosed? Disponible a: <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-symptoms-and-diagnosis/how-alzheimers-disease-diagnosed>
39. Mayo Clinic [Internet]. [citat 13 maig 2024]. Learn how Alzheimer's is diagnosed. Disponible a: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/alzheimers-disease/in-depth/alzheimers/art-20048075>

40. Garcia-Ribas G, López-Sendón Moreno JL, García-Caldentey J. [Biomarkers in Alzheimer's disease]. *Rev Neurol*. 1 abril 2014;58:308-17.
41. Janeiro MH, Ardanaz CG, Sola-Sevilla N, Dong J, Cortés-Erice M, Solas M, et al. Biomarkers in Alzheimer's disease. *Adv Lab Med*. 2(1):27-37.
42. Johnson KA, Fox NC, Sperling RA, Klunk WE. Brain Imaging in Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 4 gener 2012;2(4):a006213.
43. Functional Assessment Staging (FAST) in Alzheimer's Disease: Reliability, Validity, and Ordinality - ProQuest [Internet]. [citat 3 maig 2024]. Disponible a: <https://www.proquest.com/docview/2392982158?accountid=15295&sourcetype=Scholarly%20Journals>
44. Na HR, Kim SY, Chang YH, Park MH, Cho ST, Han IW, et al. Functional Assessment Staging (FAST) in Korean Patients with Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 1 gener 2010;22(1):151-8.
45. Reisberg B. Functional Assessment Staging (FAST). *Psychopharmacol Bull*. 1988;24(4):653-9.
46. Arevalo-Rodriguez I, Smailagic N, Figuls MR i, Ciapponi A, Sanchez-Perez E, Giannakou A, et al. Mini-Mental State Examination (MMSE) for the detection of Alzheimer's disease and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2015 [citat 3 maig 2024];(3). Disponible a: <https://www.readcube.com/articles/10.1002%2F14651858.cd010783.pub2>
47. Mitchell AJ. The Mini-Mental State Examination (MMSE): An Update on Its Diagnostic Validity for Cognitive Disorders. En: Lerner AJ, editor. *Cognitive Screening Instruments: A Practical Approach* [Internet]. London: Springer; 2013 [citat 3 maig 2024]. p. 15-46. Disponible a: https://doi.org/10.1007/978-1-4471-2452-8_2
48. Escala de Deterioro Global (GDS) de Reisberg [Internet]. [citat 6 maig 2024]. Disponible a: <https://www.hipocampo.org/reisberg.asp>
49. Physiopedia [Internet]. [citat 6 maig 2024]. Global Deterioration Scale. Disponible a: https://www.physio-pedia.com/Global_Deterioration_Scale
50. The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia | *American Journal of Psychiatry* [Internet]. [citat 6 maig 2024]. Disponible a: <https://ajp.psychiatryonline.org/doi/abs/10.1176/ajp.139.9.1136>
51. Prost E. <http://www.geriatric-resources.com/html/gds.html>.
52. Auer S, Reisberg B. The GDS/FAST Staging System. *Int Psychogeriatr*. desembre 1997;9(S1):167-71.
53. Clinical Dementia Rating - an overview | ScienceDirect Topics [Internet]. [citat 6 maig 2024]. Disponible a: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/clinical-dementia-rating>
54. Hughes CP, Berg L, Danziger W, Coben LA, Martin RL. A New Clinical Scale for the Staging of Dementia. *Br J Psychiatry*. juny 1982;140(6):566-72.
55. Clasificación Clínica de la Demencia (CDR) de Hughes [Internet]. [citat 3 maig 2024]. Disponible a: <https://www.hipocampo.org/hughes.asp>

56. Alzheimer's Association 2024 Alzheimer's Disease Facts and Figures.
57. Underlying Cause of Death, 2018-2022, Single Race Request [Internet]. [citat 2 maig 2024]. Disponible a:
<https://wonder.cdc.gov/controller/datarequest/D158;jsessionid=4619A2808D70AEF418DC380B8D35>
58. Brookmeyer R, Corrada MM, Curriero FC, Kawas C. Survival Following a Diagnosis of Alzheimer Disease. *Arch Neurol*. 1 novembre 2002;59(11):1764-7.
59. Brodaty H, Seeher K, Gibson L. Dementia time to death: a systematic literature review on survival time and years of life lost in people with dementia. *Int Psychogeriatr*. juliol 2012;24(7):1034-45.
60. Ganguli M, Dodge HH, Shen C, Pandav RS, DeKosky ST. Alzheimer Disease and Mortality: A 15-Year Epidemiological Study. *Arch Neurol*. 1 maig 2005;62(5):779-84.
61. Arrighi HM, Neumann PJ, Lieberburg IM, Townsend RJ. Lethality of Alzheimer Disease and Its Impact on Nursing Home Placement. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. març 2010;24(1):90.
62. Tom SE, Hubbard RA, Crane PK, Haneuse SJ, Bowen J, McCormick WC, et al. Characterization of Dementia and Alzheimer's Disease in an Older Population: Updated Incidence and Life Expectancy With and Without Dementia. *Am J Public Health*. febrer 2015;105(2):408-13.
63. Alzheimer's Disease and Dementia [Internet]. [citat 16 maig 2024]. Lecanemab Aprobado para el Tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer Temprana. Disponible a:
<https://alz.org/alzheimers-dementia/treatments/lecanemab-leqembi>
64. van Dyck Christopher H., Swanson Chad J., Aisen Paul, Bateman Randall J., Chen Christopher, Gee Michelle, et al. Lecanemab in Early Alzheimer's Disease. *N Engl J Med*. 4 gener 2023;388(1):9-21.
65. Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*. 8 desembre 2020;25(24):5789.
66. How Is Alzheimer's Disease Treated? | National Institute on Aging [Internet]. [citat 15 maig 2024]. Disponible a: <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-treatment/how-alzheimers-disease-treated>
67. Types and Phases of Clinical Trials | What Are Clinical Trial Phases? [Internet]. [citat 1 juliol 2024]. Disponible a: <https://www.cancer.org/cancer/managing-cancer/making-treatment-decisions/clinical-trials/what-you-need-to-know/phases-of-clinical-trials.html>
68. Commissioner O of the. Step 3: Clinical Research. FDA [Internet]. 18 abril 2019 [citat 1 juliol 2024]; Disponible a: <https://www.fda.gov/patients/drug-development-process/step-3-clinical-research>
69. Reiman EM, Arboleda-Velasquez JF, Quiroz YT, Huentelman MJ, Beach TG, Caselli RJ, et al. Exceptionally low likelihood of Alzheimer's dementia in APOE2 homozygotes from a 5,000-person neuropathological study. *Nat Commun*. 3 febrer 2020;11:667.
70. Alzheimer's [Internet]. Lexeo Therapeutics. [citat 3 juny 2024]. Disponible a:
<https://www.lexeotx.com/programs/cns-programs/alzheimers/>

71. Lexeo Therapeutics. A 52-Week, Multicenter, Phase 1/2 Open-label Study to Evaluate the Safety of LX1001 in Participants With APOE4 Homozygote Alzheimer's Disease [Internet]. clinicaltrials.gov; 2023 nov [citat 1 gener 2024]. Report No.: NCT03634007. Disponible a: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03634007>
72. Zhao L, Gottesdiener AJ, Parmar M, Li M, Kaminsky SM, Chiuchiolo MJ, et al. Intracerebral adeno-associated virus gene delivery of apolipoprotein E2 markedly reduces brain amyloid pathology in Alzheimer's disease mouse models. *Neurobiol Aging*. agost 2016;44:159-72.
73. Rosenberg JB, Kaplitt MG, De BP, Chen A, Flagiello T, Salami C, et al. AAVrh.10-Mediated APOE2 Central Nervous System Gene Therapy for APOE4-Associated Alzheimer's Disease. *Hum Gene Ther Clin Dev*. març 2018;29(1):24-47.
74. ctv.veeva.com [Internet]. [citat 4 juny 2024]. Gene Therapy for APOE4 Homozygote of Alzheimer's Disease. Disponible a: <https://ctv.veeva.com/study/gene-therapy-for-apoe4-homozygote-of-alzheimers-disease>
75. LX1001 | ALZFORUM [Internet]. [citat 4 juny 2024]. Disponible a: <https://www.alzforum.org/therapeutics/lx1001>
76. Presentations - Lexeo Therapeutics [Internet]. [citat 25 juny 2024]. Disponible a: <https://ir.lexeotx.com/news-events/presentations/>
77. APOE R154S (Christchurch) | ALZFORUM [Internet]. [citat 5 juny 2024]. Disponible a: <https://www.alzforum.org/mutations/apoe-r154s-christchurch>
78. Alzheimer's Disease and Dementia [Internet]. [citat 5 juny 2024]. Unlocking the Christchurch Variant. Disponible a: <https://alz.org/news/2022/unlocking-the-christchurch-variant>
79. Arboleda-Velasquez JF, Lopera F, O'Hare M, Delgado-Tirado S, Marino C, Chmielewska N, et al. Resistance to autosomal dominant Alzheimer's disease in an APOE3 Christchurch homozygote: a case report. *Nat Med*. novembre 2019;25(11):1680-3.
80. Chen Y, Song S, Parhizkar S, Lord J, Zhu Y, Strickland MR, et al. APOE3ch alters microglial response and suppresses A β -induced tau seeding and spread. *Cell*. 18 gener 2024;187(2):428-445.e20.
81. Murakami R, Watanabe H, Hashimoto H, Kashiwagi-Hakozaki M, Hashimoto T, Karch CM, et al. Inhibitory roles of Apolipoprotein E Christchurch astrocytes in curbing tau propagation using human pluripotent stem cell-derived models. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 22 abril 2024;e1709232024.
82. Pipeline [Internet]. Lexeo Therapeutics. [citat 4 juny 2024]. Disponible a: <https://www.lexeotx.com/pipeline/>
83. Lee SJ, Colpan C, Knoll ER, Fang CL, Bueno BS, Rivera G, et al. Intravenous Administration of BBB-penetrant, MAPT-silencing, AAV Gene Therapy Provides Broad and Robust CNS Tau Lowering in Tauopathy Mouse Models.
84. Pipeline – Overview - Voyager Therapeutics [Internet]. 2023 [citat 10 juny 2024]. Disponible a: <https://www.voyagertherapeutics.com/pipeline-overview/>
85. Bathina S, Das UN. Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. *Arch Med Sci AMS*. 10 desembre 2015;11(6):1164-78.

86. Maureira Cid F. Plasticidad sináptica, BDNF y ejercicio físico. *EmasF Rev Digit Educ Física*. 2 maig 2016;7:51-63.
87. Alzheimer's Disease [Internet]. [citat 10 juny 2024]. Disponible a: <https://neurosciences.ucsd.edu/centers-programs/neural-repair/projects/alzheimers-disease.html#Selected-Publications->
88. Tuszynski MH, Yang JH, Barba D, U HS, Bakay RAE, Pay MM, et al. Nerve Growth Factor Gene Therapy: Activation of Neuronal Responses in Alzheimer Disease. *JAMA Neurol*. octubre 2015;72(10):1139-47.
89. UC San Diego Health [Internet]. [citat 10 juny 2024]. First-in-Human Clinical Trial to Assess Gene Therapy for Alzheimer's Disease. Disponible a: <https://health.ucsd.edu/news/press-releases/2021-02-18-first-in-human-clinical-trial-to-assess-gene-therapy-for-alzheimers-disease/>
90. Nagahara AH, Mateling M, Kovacs I, Wang L, Eggert S, Rockenstein E, et al. Early BDNF treatment ameliorates cell loss in the entorhinal cortex of APP transgenic mice. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 25 setembre 2013;33(39):15596-602.
91. Tuszynski M. A Phase I Study to Assess the Safety, Tolerability and Preliminary Efficacy of AAV2-BDNF [Adeno-Associated Virus (AAV)-Based, Vector-Mediated Delivery of Human Brain Derived Neurotrophic Factor] in Subjects With Early Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment [Internet]. clinicaltrials.gov; 2024 maig [citat 1 gener 2024]. Report No.: NCT05040217. Disponible a: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05040217>
92. Rhinn H, Tatton N, McCaughey S, Kurnellas M, Rosenthal A. Progranulin as a therapeutic target in neurodegenerative diseases. *Trends Pharmacol Sci*. agost 2022;43(8):641-52.
93. Van Kampen JM, Baranowski D, Kay DG. Progranulin Gene Delivery Protects Dopaminergic Neurons in a Mouse Model of Parkinson's Disease. *PLoS ONE*. 7 maig 2014;9(5):e97032.
94. Hinderer C, Miller R, Dyer C, Johansson J, Bell P, Buza E, et al. Adeno-associated virus serotype 1-based gene therapy for FTD caused by GRN mutations. *Ann Clin Transl Neurol*. octubre 2020;7(10):1843-53.
95. Passage Bio Announces Promising Initial Data From Phase 1/2 Clinical Trial of PBFT02 in FTD-GRN and Updated Strategic Priorities [Internet]. [citat 11 juny 2024]. Disponible a: <https://www.passagebio.com/investors-and-news/press-releases-and-statements/news-details/2023/Passage-Bio-Announces-Promising-Initial-Data-From-Phase-1-2-Clinical-Trial-of-PBFT02-in-FTD-GRN-and-Updated-Strategic-Priorities/default.aspx>
96. Study Details | A Study of PBFT02 in Patients With Frontotemporal Dementia and Progranulin Mutations (FTD-GRN) | [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov) [Internet]. [citat 11 juny 2024]. Disponible a: [https://clinicaltrials.gov/study/NCT04747431?viewType=Table&cond=Alzheimer%27s%20Disease&term=A%20Study%20of%20PBFT02%20in%20Patients%20With%20Frontotemporal%20Dementia%20and%20Progranulin%20Mutations%20\(FTD-GRN\)%20\(uptiFT-D\)&rank=1](https://clinicaltrials.gov/study/NCT04747431?viewType=Table&cond=Alzheimer%27s%20Disease&term=A%20Study%20of%20PBFT02%20in%20Patients%20With%20Frontotemporal%20Dementia%20and%20Progranulin%20Mutations%20(FTD-GRN)%20(uptiFT-D)&rank=1)
97. Wang D, Tai PWL, Gao G. Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery. *Nat Rev Drug Discov*. maig 2019;18(5):358-78.
98. Spires-Jones TL. How do we prevent scientific fraud? *Brain Commun*. 6 setembre 2022;4(5):fcac217.

99. 2023 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 2023;19(4):1598-695.
100. Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science.* 10 abril 1992;256(5054):184-5.