



Universitat
de les Illes Balears

TREBALL FI DE GRAU

DIABETIS I MALALTIA D'ALZHEIMER. QUIN PAPER JUGA L'ESTRÈS OXIDATIU?

Georgiana Laura Zamfir

Grau de Bioquímica

Facultat de Ciències

Any Acadèmic 2019-20

DIABETIS I MALALTIA D'ALZHEIMER. QUIN PAPER JUGA L'ESTRÈS OXIDATIU?

Georgiana Laura Zamfir

Treball de Fi de Grau

Facultat de Ciències

Universitat de les Illes Balears

Any Acadèmic 2019-20

Paraules clau del treball:

Estrès oxidatiu, espècies reactives d'oxigen, diabetis, Alzheimer, malalties neurodegeneratives

Nom Tutor/Tutora del Treball Isabel Lladó Sampol

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació

Autor		Tutor	
Sí	No	Sí	No
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

ÍNDIX

1. Llistat d'abreviacions.....	pàg. 6
2. Abstract.....	pàg. 6
3. Introducció.....	pàg. 7
- Estrès oxidatiu: una qüestió de desequilibri.....	pàg. 7
- Patologia molecular de la diabetis.....	pàg. 8
- Alzheimer i neuroinflamació.....	pàg. 11
- Relació entre diabetis i Alzheimer: possible paper de l'estrès oxidatiu.....	pàg. 13
4. Objectius.....	pàg. 14
5. Materials i mètodes.....	pàg. 14
6. Resultats i discussió.....	pàg. 17
6.1 Estrès oxidatiu i diabetis.....	pàg. 17
- Estrès oxidatiu, resistència a la insulina i disfunció a les cèl·lules β -pancreàtiques.....	pàg. 17
- Estrès oxidatiu i expressió de miRNAs involucrats amb l'evolució/protecció enfront a la diabetis.....	pàg. 19
6.2 Estrès oxidatiu i malalties neurodegeneratives. Enfoc en la malaltia d'Alzheimer.....	pàg. 20
- TNF i neuroinflamació: el paper de TNFR.....	pàg. 20
- Estrès oxidatiu i formació de plaques β -amiloides: via JNK i p38.....	pàg. 21
- Mutacions al DNA mitocondrial causades per estrès oxidatiu i alteracions en la formació d'ATP.....	pàg. 23
6.3 Relació entre diabetis i Alzheimer: denominadors comuns.....	pàg. 24
- Paper de la insulina al SNC.....	pàg. 24
- Resistència a la insulina i formació de plaques β -amiloides.....	pàg. 25
- Resistència a la insulina i hiperfosforilació de tau.....	pàg. 27
7. Perspectives de futur.....	pàg. 28
8. Conclusió.....	pàg. 29
9. Bibliografia.....	pàg. 29

1. Llistat d'abreviacions

- ERO: espècies reactives d'oxigen.
- NOX: NADPH oxidasa.
- ERN: espècies reactives de nitrogen.
- NOS: òxid nítric sintasa.
- SOD: superòxid dismutasa.
- IL-6: interleuquina 6.
- TNF: factor de necrosi tumoral.
- TNFR: receptor de TNF.
- A β : β -amiloide.
- IRS: substrat del receptor d'insulina.
- HNE: 4-hidroxilnonenal.
- mtDNA: DNA mitocondrial.
- CAT: catalasa.
- DM: diabetis mellitus.
- DMT1: diabetis mellitus tipus 1.
- DMT2: diabetis mellitus tipus 2.
- IL-1: interleuquina 1.
- COX: citocrom C oxidasa.
- PHF: filaments helicoidals aparellats.
- GSK3: glucogen sintasa quinasa 3.
- SNC: sistema nerviós central.
- AGL: àcids grassos lliures.
- APP: proteïna precursora amiloide

2. Abstract

L'estrès oxidatiu i les elevades concentracions de les espècies reactives d'oxigen es consideren el resultat d'un desequilibri cel·lular entre la seva producció i neutralització. Avui en dia, s'ha relacionat l'estrès oxidatiu amb multitud de malalties, com la diabetis, l'Alzheimer, el càncer o les malalties cardiovasculars. La diabetis, més concretament la diabetis mellitus tipus 2, és una malaltia multifactorial causada per una resistència a la insulina. S'ha relacionat el paper de l'estrès oxidatiu amb la fisiopatologia de la diabetis per mitjà de factors com la via IKK β /NF- κ β i els canals de Ca²⁺. L'Alzheimer, per una altra banda, es caracteritza per una acumulació extracel·lular de plaques β -amiloïdes i una agregació intracel·lular de proteïna tau hiperfosforilada. La seva connexió amb l'estrès oxidatiu es pot explicar amb la via JNK, TNF i mutacions al DNA mitocondrial. A causa de que les dues malalties presenten aquest denominador comú, es podria establir una relació entre ambdues. Als darrers anys aquesta idea ha anat agafant força, de manera que s'han pogut relacionar les dues patologies mitjançant l'estrès oxidatiu. La present memòria recull les principals evidències que sustenten la possible relació entre les dues malalties amb l'estrès oxidatiu com a base.

Oxidative stress and high concentrations of reactive oxygen species are considered to be the result of a cellular imbalance between their production and neutralization. Nowadays, oxidative stress has been linked to many diseases, such as diabetes, Alzheimer's, cancer, and cardiovascular disease. Diabetes, more specifically type 2 diabetes mellitus, is a multifactorial affection caused by insulin resistance. The role of oxidative stress has been linked to the pathophysiology of diabetes through factors such as the IKK β /NF- κ β pathway and Ca²⁺ channels. Alzheimer's, on the other hand, is characterized by an extracellular accumulation of β -amyloid plaques and an intracellular aggregation of hyperphosphorylated tau protein. Its connection to oxidative stress can be explained by the JNK pathway, TNF, and mutations in mitochondrial DNA. Because the two diseases have this common denominator, a relationship could be established between the two. In recent years, this idea has been gaining momentum, so that the two pathologies have been linked by oxidative stress. This report gathers the main evidence supporting the possible relationship between the two diseases with oxidative stress as a basis.

3. Introducció

Estrès oxidatiu: una qüestió de desequilibri

L'estrès oxidatiu es defineix com la inestabilitat existent a un sistema biològic entre els agents oxidants i els antioxidants¹. L'oxigen és un bioelement essencial per als organismes vius, ja que, a part de participar en les vies metabòliques aeròbiques, forma part dels principis immediats que constitueixen la vida. Tot i això, l'oxigen forma part dels agents oxidants relacionats amb el dany cel·lular, processos com l'envelliment i multitud de malalties. Els principals agents oxidants cel·lulars són les espècies reactives d'oxigen (ERO), un grup en què s'inclou l'anió superòxid ($O_2^{\cdot-}$), el radical hidroxil ($\cdot OH$) i el peròxid d'hidrogen (H_2O_2). Aquestes molècules, en quantitats fisiològiques, tenen un paper fonamental regulant vies de senyalització com la NF- κB , MAPKs i Keap1-Nrf2-ARE, rutes que regulen la resposta inflamatòria i la proliferació cel·lular. També controlen canals i transportadors, com els canals de Ca^{2+} , alhora que participen en la resposta immunològica². Tot i la seva importància, una concentració excessiva d'ERO condueix a un estat d'estrès oxidatiu cel·lular que s'ha relacionat estretament amb patologies com la diabetis, malalties neurodegeneratives, càncer i malalties cardiovasculars^{1,3}. Es considera que les ERO es produeixen a partir de dues fonts principals: les exògenes, on s'inclou la contaminació, el consum de tabac, la radiació UV i el contacte amb productes químics en general, i les endògenes, on s'agrupen les ERO produïdes a nivell mitocondrial,

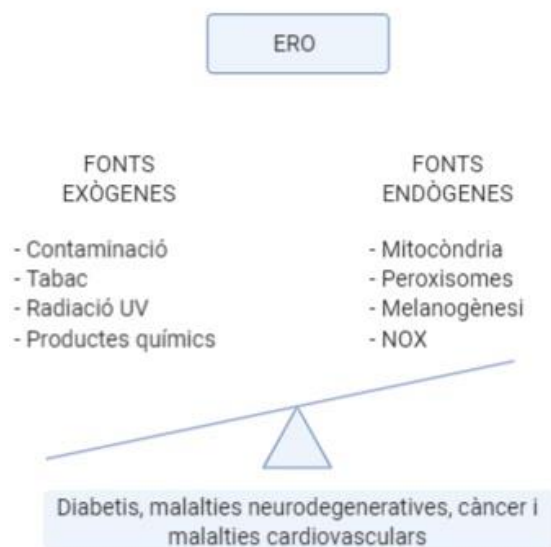


Figura 1. Fonts exògenes i endògenes d'ERO i el seu pes en quant al desenvolupament de malalties relacionades amb l'estrès oxidatiu. Imatge creada a biorender.com a partir de (4).

Juntament amb les ERO, les espècies reactives de nitrogen (ERN) també contribueixen al desequilibri cel·lular entre oxidants i antioxidants. Un exemple és el peroxinitrit ($ONOO^-$), format per la reacció entre l'òxid nítric (NO) amb l'anió superòxid. El peroxinitrit pot interaccionar amb el CO_2 donant lloc a les espècies radicals diòxid de nitrogen ($\cdot NO_2$) i $CO_3^{\cdot-}$. L'òxid nítric, precursor de les ERN, es sintetitza per l'òxid nítric sintasa (NOS). Aquest enzim presenta una isoforma específica neuronal, ja que l'òxid nítric juga un paper regulant el procés de neurotransmissió. Degut a la seva presència a aquests tipus cel·lulars i a la relació entre l'estrès oxidatiu i les malalties neurodegeneratives, s'ha plantejat la inhibició específica de NOS a neurones com a teràpia per l'Alzheimer i l'esclerosi múltiple^{1,2}.

A causa de la reactivitat dels radicals lliures, com a conseqüència del seu electró desaparellat a la darrera capa, aquests poden causar efectes perjudicials sobre les cèl·lules, com l'oxidació del DNA i proteïnes o la peroxidació lipídica. Els antioxidants tenen un paper fonamental neutralitzant-los i mantenint un entorn reductor dins les cèl·lules². De la mateixa manera que al cas dels agents oxidants, existeixen antioxidants endògens i exògens. El grup dels antioxidants endògens està format pels enzims antioxidants superòxid dismutasa (SOD) i catalasa (CAT).

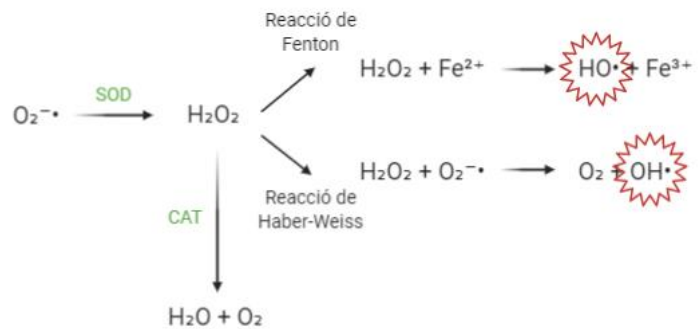


Figura 2. ERO i principals enzims antioxidants cel·lulars. El peròxid d'hidrogen, mitjançant les reaccions de Fenton o Haber-Weiss, forma radical hidroxil, considerada l'ERO més reactiva a causa de la falta d'un enzim antioxidant per a la seva neutralització. Imatge creada a biorender.com a partir de (1).

La SOD s'encarrega de convertir l'anió superòxid abans esmentat en peròxid d'hidrogen. Aquest peròxid, tot i no ser un radical lliure, pot formar radical hidroxil mitjançant la reacció de Fenton o Haber-Weiss, per tant, és important la seva eliminació, duta a terme per la CAT; transforma el peròxid en aigua i oxigen. La reacció de Fenton consisteix en la interacció del peròxid d'hidrogen amb ferro, de manera que s'obté radical hidroxil, mentre que la reacció de Haber-Weiss descriu la interacció del peròxid d'hidrogen amb l'anió superòxid per donar radical hidroxil. Tal i com s'il·lustra a la [Figura 2](#), tot i que el peròxid d'hidrogen no és un radical lliure, és la font a partir de la qual es forma radical hidroxil. Aquesta ERO no és substrat de cap enzim antioxidant. A causa de que es forma a partir del peròxid i l'anió superòxid, la principal forma d'evitar la seva producció és disminuint la formació de les ERO a partir de les quals es forma. D'aquesta manera, es considera el radical hidroxil la principal i més perjudicial ERO. El correcte funcionament d'aquests enzims és fonamental, ja que l'actuació de les ERO i/o ERN sobre les biomolècules orgàniques té efectes greus, com mutacions al DNA, pèrdua de funció de proteïnes importants per al manteniment de l'homeòstasi cel·lular o guany de funció de proteïnes relacionades amb processos de proliferació o vies inflammatòries, que en darrera instància condueixen al desenvolupament de malalties¹.

En aquest grup d'antioxidants endògens també s'inclouen antioxidants no enzimàtics, com la bilirubina, la vitamina E i el β-carotè. D'altra banda, els antioxidants exògens són un grup heterogeni de molècules, on es destaca la vitamina C, els antioxidants fenòlics, com el resveratrol, àcids fenòlics i flavonoides, seleni i zinc². A causa de que la situació d'estrès oxidatiu es deu a una producció excessiva d'ERO i ERN i/o una disfunció a l'hora de la seva neutralització, el disseny i la subministració d'antioxidants exògens conformen una línia d'investigació important com a teràpia per a malalties estretament relacionades amb l'estrès oxidatiu, com la diabetis, l'Alzheimer i les malalties cardiovasculars¹.

Patologia molecular de la diabetis

La diabetis mellitus (DM) és una malaltia metabòlica crònica caracteritzada per nivells elevats de glucosa a sang (hiperglucèmia), concretament glucosa a sang en dejuni superior a 126mg/dL mesurada en dues analítiques distintes.

Aquesta malaltia està causada per una producció inadequada o resistència a la insulina, l'hormona encarregada del maneig dels nivells sèrics de glucosa. La insulina estabilitza la concentració a sang del monosacàrid mitjançant l'activació de la seva captació per teixits com el múscul, el teixit adipós i el fetge, entre d'altres, i per la inhibició de la gluconeogènesi a aquest darrer. Segons les característiques concretes i el quadre clínic de la malaltia, es poden diferenciar tres tipus principals de DM: la diabetis mellitus tipus 1 (DMT1), la tipus 2 (DMT2) i la diabetis gestacional. Aquesta darrera, en la majoria de casos, es normalitza una vegada finalitzat l'embaràs. Per tant, el punt de mira en quant a investigació i tractaments està sobretot a la DMT1 i DMT2⁵. La DMT1 és considerada una malaltia de caràcter autoimmunitari on les cèl·lules β -pancreàtiques encarregades de la secreció d'insulina són destruïdes pel propi sistema immunitari. Actualment el tractament d'aquesta malaltia es basa en l'administració d'insulina, tot i que als darrers anys s'han contemplat teràpies basades en el bloqueig de la resposta immunològica o el transplantament de cèl·lules pancreàtiques als individus que la pateixen⁶.

A la DMT2 l'organisme no respon correctament a la insulina, tot i que les cèl·lules β la produeixen i secreten en quantitats suficients. Encara no s'han elucidat els mecanismes moleculars concrets que expliquin l'aparició i progressió d'aquesta malaltia. Tot i això, sí es coneixen certs factors que juguen un paper important en el seu desenvolupament, com és l'obesitat, la hipertensió, l'estil de vida, l'edat de l'individu i, inclús, factors genètics⁵. L'obesitat es considera el principal factor de risc per al desenvolupament de la DMT2: un 50% dels pacients amb DMT2 són obesos, i un 90% tenen sobrepès. El desenvolupament de la DMT2 a causa de l'obesitat es basa sobre tot en la inflamació. Als individus obesos, els adipòcits secreten citocines proinflamatòries com la interleuquina 1 (IL-1) i la interleuquina 6 (IL-6), així com factor de necrosi tumoral (TNF). L'acumulació d'aquests provoca el reclutament de cèl·lules del sistema immunitari, com els macròfags, que al seu torn secreten citocines proinflamatòries. Es produeix una situació de retroalimentació positiva, de manera que l'estat inflamatori crònic promou la resistència a la insulina dels teixits^{5,7}.

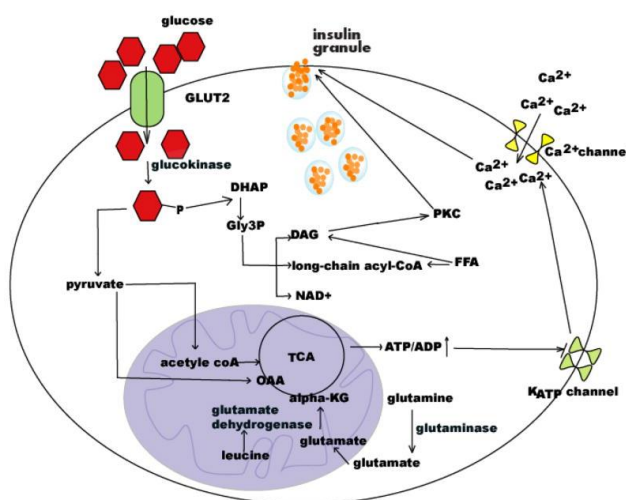


Figura 3. Mecanisme implicat en l'exocitosi dels grànuls d'insulina a les cèl·lules β -pancreàtiques. La secreció d'insulina dependent de glucosa es regulada principalment per l'obertura dels canals de Ca^{2+} , tot i que no és l'únic mecanisme existent. La via Gly3/DAG implica un mecanisme alternatiu per la secreció d'insulina. Imatge adaptada de (8).

La secreció d'insulina mediada per glucosa per part de les cèl·lules β -pancreàtiques és un procés que depèn dels canals de Ca^{2+} i K^+ , de manera que és necessària una inhibició dels canals de K^+ amb una conseqüent activació dels canals de Ca^{2+} a fi de poder dur a terme l'exocitosi dels grànuls que contenen la insulina (Figura 3). La inhibició dels canals de K^+ en situacions d'hiperglucèmia és mediada per un augment del rati ATP/ADP intracel·lular gràcies a la captació i posterior metabolisme de la glucosa. Conseqüentment, una inhibició dels canals de K^+ permeten l'obertura dels canals de Ca^{2+} , de manera que es produeix una entrada de Ca^{2+} capaç de desencadenar la correcta secreció d'insulina per part de les cèl·lules β -pancreàtiques⁸.

Per una altra banda, la via de senyalització de la insulina a les seves cèl·lules diana implica nombroses proteïnes encarregades de transmetre la senyal, on es destaca el substrat del receptor d'insulina (IRS). Aquesta proteïna té especial importància ja que el seu estat de fosforilació implica la transducció de la senyal de captació de glucosa. Les quinases encarregades de la seva fosforilació inhibidora, com JNK, IKK β o mTOR s'han associat amb resistència a la insulina i, curiosament, als darrers anys, s'han considerat com la possible relació entre la diabetis i l'Alzheimer⁹.

El tractament de la DMT2 consisteix en teràpia farmacològica i canvis a l'estil de vida de l'individu, com la dieta i l'activitat física, a fi d'incidir sobre l'obesitat, a causa de la seva importància en el desenvolupament d'aquesta malaltia. S'ha constatat que aquests canvis de l'estil de vida a individus amb sobrepès suposen una important diana per al tractament de la pre-diabetis, la condició precedent a la diabetis caracteritzada per una glucosa en dejuni superior a 100mg/dL. L'activitat física, per exemple, millora la sensibilitat a la insulina mitjançant l'increment de l'oxidació dels àcids grassos lliures (AGL) i la millora de la funció mitocondrial del múscul esquelètic⁵. D'aquesta manera, l'estil de vida de l'individu té un rol clau en quant a la prevenció del desenvolupament de la pre-diabetis i la DMT2. En quant a tractament farmacològic, es destaquen les tiazolidinediones o TZD, la metformina, la gliclazida, els inhibidors de l' α -glucosidasa i les incretines, entre d'altres. La metformina és un dels fàrmacs més populars per al tractament de la pre-diabetis. El seu mecanisme d'acció es basa en la inhibició del complex mitocondrial I, de manera que la respiració cel·lular queda reprimida. D'aquesta manera, la metformina aconsegueix incrementar la sensibilitat del múscul esquelètic a la insulina com a conseqüència de la depleció d'ATP a causa de la inhibició mitocondrial⁵.

La DMT2 està associada a nombroses complicacions, com el càncer, l'Alzheimer, la depressió i malalties oculars, cardiovasculars i renals, entre d'altres (*Figura 4*). A causa de la gravetat d'algunes d'elles, l'estudi de la DMT2 té cada vegada més interès, a fi d'esbrinar les causes i mecanismes que condueixen al seu desenvolupament. A més, als darrers anys, la DM ha rebut especial atenció a causa de les dades epidemiològiques: segons la OMS¹⁰, al 2016 la DM era la 7ena causa de mort a nivell mundial, amb 1,6 milions de morts anuals. Als Estats Units, per exemple, s'estima que en 2005 20 milions de persona tingueren DM, i que aquesta xifra podria augmentar fins a 48,3 milions en 2050^{5,11}. A Espanya, el 13,8% dels majors de 18 anys tenen DMT2, el que equival a 5,3 milions d'individus¹². Per tant, les complicacions associades a la DM, així com les dades epidemiològiques han afavorit l'atenció de la comunitat científica sobre aquest malaltia, de manera que la DM, sobre tot la DMT2, és cada vegada més un tema recurrent en l'àmbit de la investigació.

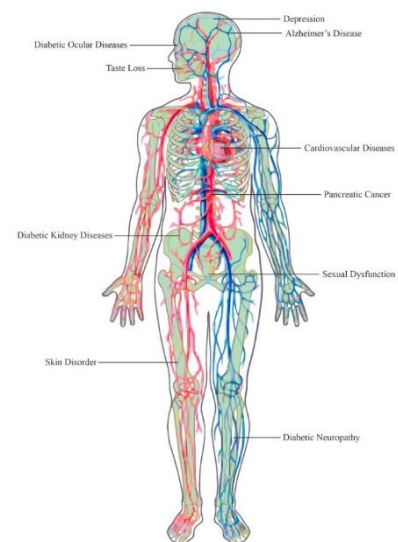


Figura 4. Principals complicacions associades a la DMT2. La quantitat i gravetat de les complicacions associades a aquesta malaltia permeten entendre la diversitat dels mecanismes implicats en la seva fisiopatologia. Imatge adaptada de (5).

Alzheimer i neuroinflamació

L'Alzheimer és una malaltia neurodegenerativa considerada la major causa de demència arreu del món. La demència es defineix com la pèrdua general de memòria, habilitats comunicatives com el llenguatge i altres capacitats relacionades amb el pensament¹³. L'Alzheimer es caracteritza per una acumulació extracel·lular de pèptid β -amiloide ($A\beta$) i una agregació intracel·lular de proteïna tau hiperfosforilada¹⁴. El pèptid β -amiloide és el producte del processament de la proteïna precursora amiloide (APP), que en condicions fisiològiques està relacionada amb el procés d'adhesió cel·lular, ja que es tracta d'una proteïna transmembrana. Aquesta pot ser secretada a l'exterior cel·lular mitjançant el seu processament per mitjà de la β i γ -secretasa, enzims encarregats de formar la proteïna $A\beta$ constituïda per fragments de 40 i 42 aminoàcids a la majoria de casos. La proteïna $A\beta$ no resulta tòxica per al teixit nerviós, però tendeix a agregar-se formant fibril·les, que al seu torn poden agregar-se donant lloc a les anomenades plaques senils, que resulten neurotòxiques¹⁵.

Per una altra banda, la proteïna tau juga un paper en el correcte funcionament del citoesquelet neuronal, de manera que s'associa als microtúbuls, estabilitzant-los. Aquesta proteïna presenta al voltant de 70 llocs de fosforilació depenent de la seva isoforma. La hiperfosforilació de tau a residus concrets a causa d'una activitat excessiva de quinases com la glucogen sintasa quinasa 3 (GSK3) implica la seva agregació i la consegüent formació dels cabdells neurofibril·lars¹⁶.

La presència al sistema nerviós central (SNC) de plaques senils i cabdells neurofibril·lars constitueix un biomarcador de la malaltia d'Alzheimer, i és la responsable de la disfunció i pèrdua de sinapsi que condueixen a la mort neuronal. Conseqüentment, la mort neuronal conduirà a la pèrdua de memòria característica d'aquesta malaltia¹³.

Al sistema nerviós central, la funció immunològica es duu a terme gràcies a les cèl·lules de la micròglia. En condicions d'absència d'infecció o dany neuronal, aquestes cèl·lules es troben quiescents, per mitjà de la seva interacció amb proteïnes neuronals com CX3CL1 o CD200. La seva activació, degut a presència d'infecció, implica la producció i secreció de citokines proinflamàtores i ERO². Els factors que poden conduir a l'activació de les cèl·lules de la micròglia són heterogenis: proteïnes tòxiques, agents infecciosos, depressió, diabetis i hipertensió, entre d'altres¹⁷. Tot i que aquestes secrecions estan íntimament relacionades amb el dany neuronal i la progressió de les malalties neurodegeneratives, s'ha trobat evidència de que activacions puntuals de la micròglia no tenen efecte perjudicial sobre el SNC i que, fins i tot, són essencials, ja que algunes citokines actuen com a factors neurotròfics: són imprescindibles per a la regeneració del teixit neuronal. A més, la micròglia juga un paper eliminant els restes cel·lulars posteriors a un procés d'apoptosi¹⁸. El dany neuronal considerable apareix a causa d'una secreció prolongada de citokines proinflamàtores (família TNF, IL-1 i IL-6), i ERO, degut a una activació repetida de la micròglia.

La situació d'inflamació constant pot inclús resultar en la infiltració de cèl·lules del sistema immune perifèric al SNC, travessant la barrera hematoencefàlica i agreujant la neuroinflamació¹⁷; aquest terme fa referència a la presència de citokines proinflamàtores i cèl·lules immunitàries activades al SNC, i és una característica comuna a totes les malalties neurodegeneratives, sobre tot a malaltia d'Alzheimer, Parkinson i esclerosi múltiple² (*Figura 5*).

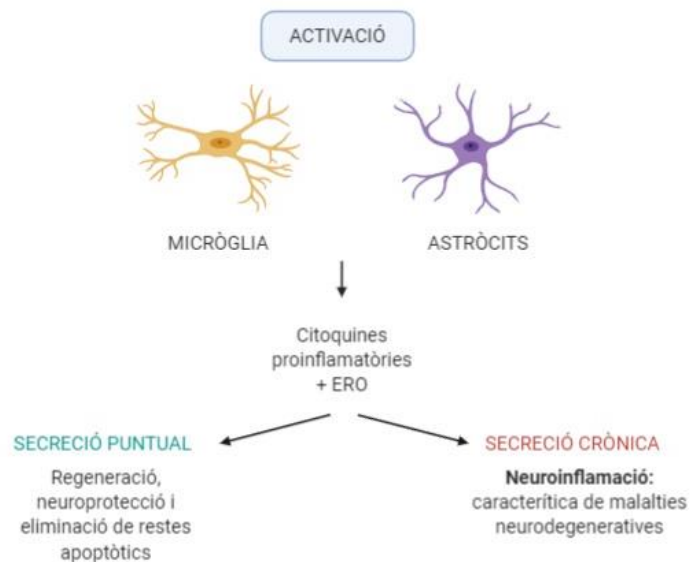


Figura 5. Efecte dual de l'activació de la micròglia i els astròcits al SNC. Imatge creada a biorender.com a partir de (2).

D'aquesta manera, per poder entendre la relació entre l'alliberació excessiva d'ERO i les malalties neurodegeneratives, cal tenir present la inflamació, ja que és un dels desencadenants d'aquests tipus de patologies.

TNF és una família de citocines cada vegada més vinculada amb l'aparició i progressió de malalties neurodegeneratives. Aquests factors alliberats per les cèl·lules de la micròglia i els astròcits exageren la inflamació i promouen l'alliberació d'ERO, i es troben regulats a l'alça en malalties neurodegeneratives¹⁹. Contràriament, el TNF al teixit nerviós promou la regeneració i neuroprotecció². A causa dels diferents efectes que pot provocar al SNC, no es coneix del tot sota quines condicions TNF té efectes beneficiosos o perjudicials pel teixit neuronal¹⁹. TNF- α es sintetitza com una proteïna transmembrana (memTNF) i necessita d'una escissió proteolítica mediada per TACE (enzim convertidor de TNF- α), resultant en sTNF (TNF soluble). Per entendre millor el paper i acció de sTNF, cal diferenciar els seus dos receptors: TNFR1 i TNFR2. Mentre que TNFR1 és troba a pràcticament tots els teixits, TNFR2 és exclusiu de cèl·lules T reguladores, cèl·lules endotelials i neurones². La secreció de TNF resulta en un augment d'expressió de molècules d'adhesió a l'endoteli vascular, de manera que s'afavoreix la migració de cèl·lules del sistema immune al SNC². La barrera hematoencefàlica manté el teixit neuronal aïllat de factors nocius presents a la circulació, de manera que protegeix les neurones de substàncies tòxiques, patògens i altres tipus d'insults. El TNF perifèric és capaç de travessar-la, arribant al SNC i estimulant la secreció de TNF per part de la micròglia²⁰. Alteracions a la barrera hematoencefàlica s'han relacionat amb malalties com l'Alzheimer, Parkinson i esclerosi lateral amiotròfica, de manera que resulta un punt a tenir en compte a l'hora del desenvolupament de fàrmacs i teràpies²¹.

Un factor comú a malalties neurodegeneratives com Alzheimer i Parkinson, i la diabetis és la producció excessiva d'ERO a causa de disfunció mitocondrial². De manera natural, entre un 0,4 i un 4% de l'oxigen consumit per la mitocondria a la cadena de transport electrònic genera ERO, com l'anió superòxid²².

El SNC és un òrgan amb una elevada taxa metabòlica, de manera que requereix aproximadament un 20% del consum energètic total de l'organisme necessitant, per tant, una elevada quantitat de mitocondries per assolir els seus requeriments. Concretament, la demanda energètica al SNC és elevada en neurones i oligodendròcits². Aquests tipus cel·lulars es caracteritzen per tenir, a més, una regeneració cel·lular restringida, de manera que, tenint en compte els tres factors esmentats (elevat consum energètic, major nombre de mitocondries i baixa regeneració cel·lular), el SNC és un òrgan especialment sensible a l'estrès oxidatiu, un dels factors principals en el desenvolupament de malalties neurodegeneratives²².

A causa d'un augment de l'esperança de vida a països desenvolupats i al fet de que l'Alzheimer és una malaltia estretament relacionada amb l'envelliment, les dades epidemiològiques sobre la incidència d'aquesta malaltia són cada vegada majors. Més de 25 milions de persones arreu del món tenen demència, la majoria d'elles diagnosticades amb malaltia d'Alzheimer, i es registren 5 milions de casos nous anualment. A més, el nombre de persones amb demència s'espera que es dupliqui cada 20 anys²³.

D'aquesta manera, degut a l'augment de l'esperança de vida abans esmentat, l'Alzheimer constitueix una de les malalties neurodegeneratives associades a l'envelliment que afecten a la qualitat de vida dels ancians. A causa de la seva fisiopatologia multifactorial i a la relació de l'Alzheimer amb multitud d'altres malalties, la investigació de nous tractaments per l'Alzheimer és cada vegada major. Curiosament, la majoria de teràpies, que es detallen a l'apartat 7. Perspectiva de futur, estan relacionades amb antioxidants, de manera que la relació entre l'estrès oxidatiu i l'aparició i evolució de l'Alzheimer és cada vegada més clara.

Relació entre diabetis i Alzheimer: possible paper de l'estrès oxidatiu

Cada vegada més s'està donant suport a la idea que sustenta la relació entre la diabetis i l'Alzheimer, fins i tot alguns autors es refereixen a l'Alzheimer com la diabetis mellitus tipus 3. Certs estudis senyalen que els pacients amb DMT2 tenen un 65% més de probabilitat de desenvolupar Alzheimer. Concretament, es pensa que la deficiència o resistència a la insulina són mediadors neurodegeneratius, de manera que la patogènia de les dues malalties podria tenir denominadors comuns⁵.

L'evidència més acceptada es fonamenta en què la diabetis, més concretament la DMT2, a causa de la resistència a la insulina, té la capacitat d'agreujar la situació neurodegenerativa de pacients amb Alzheimer²⁴. Teixits com el cervell metabolitzen quasi exclusivament glucosa, de manera que depenen d'aquest substrat per al seu correcte funcionament. A més, degut a l'elevada demanda energètica del cervell abans esmentada, aquest resulta molt sensible a canvis en el seu rati ATP/ADP, ja que ha de mantenir processos essencials per al funcionament neuronal, com la sinapsi o l'autofàgia. Aquesta darrera permet a les neurones degradar les macromolècules aberrants; a causa de que les neurones tenen una procés mitòtic molt restringir, inclús inexistent, l'autofàgia constitueix un mecanisme de reciclatge la funció del qual permet l'eliminació dels components cel·lulars danyats amb la intenció de no permetre que puguin comprometre la funció neuronal². Tal i com s'ha exposat abans, l'estrès oxidatiu representa un dels factors amb capacitat d'actuar sobre proteïnes i lípids cel·lulars, alterant la seva funció i conseqüentment, la funció cel·lular.

A causa de que el SNC és un sistema que presenta una gran demanda d'oxigen, la formació d'ERO al SNC resulta considerablement superior en comparació amb altres òrgans². Curiosament, als darrers anys, s'ha demostrat que el cervell presenta receptors per la insulina²⁵, de manera que podria existir certa connexió entre la resistència a la insulina al SNC i el desenvolupament de biomarcadors característics d'Alzheimer.

Si es tenen en compte els factors presentats: dependència de glucosa del SNC, gran demanda energètica d'aquest òrgan per mantenir processos com l'autofàgia, la formació d'ERO i la presència de receptors d'insulina al SNC, es pot establir la possible relació entre les dues patologies. Cal dir que, a causa de de que la fisiopatologia de les pròpies malalties per separat encara no es coneix totalment a dia d'avui, la relació específica entre les dues roman encara una incògnita²⁴.

4. Objectius

El present treball presenta tres objectius principals. En primer lloc es pretén explicar, des d'un punt de vista molecular, la possible relació entre la diabetis i l'estrès oxidatiu, l'Alzheimer i l'estrès oxidatiu i la diabetis i l'Alzheimer, amb l'estrès oxidatiu com a denominador comú. Tot i que la relació entre les dues patologies roman encara un interrogant, aquest treball recull l'evidència més sustentada actualment que expliqui dita connexió.

5. Materials i mètodes

Per dur a terme aquest treball s'han emprat tres motors de cerca: PubMed (majoritàriament), Google Académico i Google. A la [Taula 1](#) es recull la cerca realitzada a fi de trobar la informació necessària pel desenvolupament de la memòria. PubMed és un cercador que permet accedir a revisions i assajos clínics relacionats amb la investigació biomèdica. S'ha fet ús d'aquest motor a fi de trobar articles científics realitzats per especialistes en estrès oxidatiu, diabetis i Alzheimer. Sobre tot s'han emprat d'articles de revisió (Review a la [Taula 1](#)), tot i que també s'han consultat articles més específics i de caràcter clínic (Assaig clínic a la [Taula 1](#)) amb la intenció de complementar la informació obtinguda amb les revisions. Les cerques s'han centrat majoritàriament en publicacions dels darrers anys a fi de presentar la informació més recent. Tot i que en gran part s'han emprat articles dels darrers 10 anys, alguns articles tenen dates de publicació anteriors, sent el més antic un article publicat fa 26 anys. Gràcies a l'aplicació del filtre "Als darrers 10 anys" de PubMed, s'ha pogut elaborar un treball amb informació recent i en concordança amb els avenços tecnològics. Per a realitzar una cerca molt més específica, també s'han emprat els termes Title i Title/Abstract que facilita PubMed. L'ús d'aquets es detalla a la columna "Cerca" de la [Taula 1](#). La selecció dels articles d'interès per al treball, un cop feta la cerca, s'ha dut a terme mitjançant una lectura de seu l'abstract.

En darrer lloc, les cerques realitzades a Google Académico i Google s'han realitzar per termes generals i conceptes de caràcter divulgatiu. Aquestes es detallen al final de la [Taula 1](#).

Taula 1. Recull de les cerques dutes a terme a fi d'obtenir la informació necessària per a la realització de la memòria. S'especifica la cerca concreta realitzada, amb l'aplicació, si és el cas, dels termes Title o Title/Abstract, el motor de cerca emprat, els filtres aplicats (Review, Assaig clínic o Als darrers 10 anys), el resultats obtinguts i la seva correspondència amb la bibliografia del treball.

Cerca	Motor de cerca	Review	Assaig clínic	Als darrers 10 anys	Resultats obtinguts	Resultats a la bibliografia
(oxidative stress[Title]) AND diabetes[Title]	PubMed	✓		✓	116	(7), (26) i (32)
(oxidative stress[Title]) AND Alzheimer[Title]		✓		✓	18	(13) i (37)
(diabetes[Title]) AND Alzheimer[Title]		✓			183	(24), (44) (46)
(oxidative stress[Title]) AND neurodegenerative disease[Title]		✓			7	(2), (4) i (22)
(TNF[Title]) AND Alzheimer[Title]				✓		(36)
(neurodegenerative[Title]) AND neuroinflammation		✓		✓	246	(18) i (19)
(blood-brain barrier[Title]) AND Alzheimer[Title]		✓		✓	34	(21)
(oxidative stress[Title/Abstract])		✓		✓	17782	(1), (3), (25)
(diabetes[Title])		✓			30563	(5), (6), (8), (11) i (29)
(Alzheimer[Title])		✓			13287	(14), (23) (43), (47) (48), (49), (51), (52)
(tau[Title]) AND (insulin[Title])					82	(9)
(inflammation AND (CNS[Title]))		✓		✓	177	(17)
(inhibition of TNF) AND (neuroinflammation[Title/Abstract])				✓	1112	(20)
(NF-κB[Title]) AND (insulin[Title])					107	(27)
(oxidative stress[Title]) AND K channel				✓	105	(28)
(gliclazide[Title]) AND (diabetes[Title])				✓	✓	8

(microRNA[Title]) AND (diabetes[Title/Abstract])			✓	✓	619	(33) i (34)
(transgenic model[Title]) AND Alzheimer[Title]					95	(35)
((APP[Title/Abstract]) AND (Alzheimer[Title/Abstract])) AND (oxidative stress[Title/Abstract])			✓		616	(38)
((DNA[Title]) AND (Alzheimer)) AND (neurodegenerative)					250	(39) i (41)
(cytochrome c oxidase[Title]) AND (DNA mutation[Title/Abstract])					6	(40)
(cytochrome c oxidase[Title]) AND (Alzheimer[Title])					26	(42)
(insulin[Title]) AND (brain function[Title])		✓		✓	2	(45)
(insulin[Title]) AND (amyloid precursor protein[Title])			✓		19	(49)
(tau[Title]) AND (oxidative stress[Title])			✓		60	(53)
(therapy[Title/Abstract]) AND (type 2 diabetes[Title/Abstract])			✓	✓	1435	(30)
“el peptido b amiloide”	Google Académico				5880	(15)
“fosforilacion de tau”	Google Académico				3190	(16)
“principales causas de muerte en el mundo”	Google				55600000	(10)
“la diabetes en españa”	Google				46100000	(12)

6. Resultats i discussió

6.1 Estrès oxidatiu i diabetis

Estrès oxidatiu, resistència a la insulina i disfunció a les cèl·lules β -pancreàtiques

Evidència recent suggereix que la producció excessiva d'ERO mitocondrial podria ser conseqüència de la hiperglucèmia i l'acumulació d'AGL característics de quadres clínics amb DMT2. En primer lloc, tant l'elevada concentració de d'AGL com la hiperglucèmia actuen induint l'activitat de l'enzim NOX, afavorint la formació de les anomenades ERO d'origen no

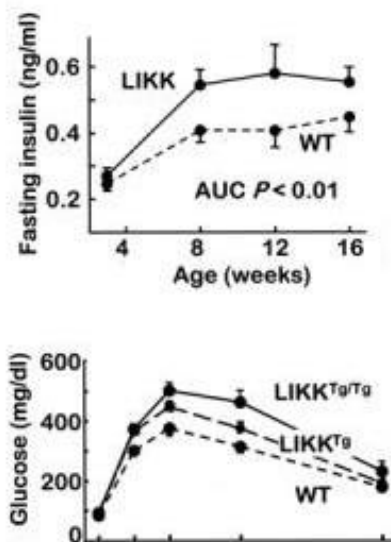


Figura 6. Concentracions d'insulina en dejuni i glucosa al model animal transgènic LIKK homozigot (Tg/Tg) i heterozigot (Tg) en comparació amb ratolins salvatges (WT). Imatge adaptada de (28).

mitocondrial^{2,26}. A més, a causa de l'acumulació d'AGL, es produeix un metabolisme excessiu d'àcids grassos dins la cèl·lula, de manera que les ERO formades a nivell mitocondrial a la cadena de transport electrònic i aquelles formades a causa de l'activitat de NOX a la membrana cel·lular comencen a acumular-se. Una de les dianes de les ERO a les cèl·lules és IKK β . Mitjançant modificacions redox a residus de cisteïna, les ERO permeten l'activació aberrant de la via IKK β /NF- κ B²⁷. Cai et al. feren ús de ratolins LIKK, un model transgènic que expressa de manera constitutiva IKK β a hepatòcits. Els resultats (Figura 6) mostren com el model animal transgènic presenta majors concentracions d'insulina sèrica en dejuni en comparació amb els ratolins salvatges. A més, la concentració de glucosa resultà més elevada tant en el cas dels homozigots (Tg/Tg) com dels heterozigots (Tg) amb sobreexpressió d'IKK β . Addicionalment, els investigadors demostren un increment de citoquines presents al sèrum dels ratolins transgènics²⁸.

El resultat més significatiu mostra l'augment de l'IL-6 al cas dels LIKK homozigots. Aquest resultat dona suport a l'activació aberrant de la via IKK β /NF- κ B als animals transgènics, ja que l'expressió de citoquines com IL-6 és una de les dianes del factor de transcripció NF- κ B. A més, en cas d'induir l'expressió d'un inhibidor d'IKK β , el fenotip dels ratolins transgènics es restableix, demostrant la possible relació entre l'activació constitutiva d'aquesta via a causa de les ERO amb biomarcadors característics de resistència a la insulina a models animals. Lligat amb els resultats anteriors, els autors demostren que l'acumulació de lípids té efectes inflamatoris i pot arribar a causar resistència a la insulina a teixits com el fetge. D'aquesta manera, es conclou la possible relació entre la formació d'ERO cel·lular amb l'activació aberrant de la via IKK β /NF- κ B i l'evolució de la DMT2^{26,28}.

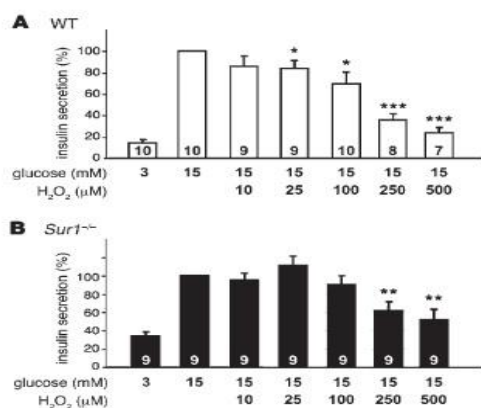


Figura 7. Efecte de la subministració de concentracions creixents d'H₂O₂ a ratolins knockdown i salvatges (WT) per Sur1 sobre la concentració d'insulina secretada al pàncrees. Imatge adaptada de (29).

L'excés d'AGL i la conseqüent acumulació d'ERO abans esmentada també sembla jugar un paper a l'hora de permetre mantenir oberts els canals de K⁺, de manera que es suprimeix l'obertura dels canals de Ca²⁺ i la conseqüent sensibilitat de la cèl·lula β-pancreàtica a la secreció d'insulina²⁶. Investigacions amb ratolins knockdown pel receptor de sulfonilurea tipus 1 (Sur1), una de les subunitats dels canals de K⁺, mostren com la inhibició dels canals de K⁺ afavoreix la secreció d'insulina per part de les cèl·lules β-pancreàtiques en presència de diferents concentracions de peròxid d'hidrogen (Figura 7)²⁹. A més, s'ha observat que els enzims antioxidants SOD i CAT es troben regulats a l'alça en el cas de cèl·lules β-pancreàtiques amb disfuncions a l'hora de secretar insulina. Segon Gier et al. i Drews et al., existeix una relació entre l'obertura dels canals de Ca²⁺ i l'expressió d'enzims antioxidants, de manera que una inhibició dels canals de Ca²⁺ a causa de l'obertura continuada dels canals de K⁺ com a conseqüència d'una acumulació d'ERO intracel·lular provoca una augment de l'expressió de SOD i CAT per fer front a la situació d'estrès oxidatiu cel·lular^{26,29}. En un estudi realitzat amb gliclazida, un potent antioxidant que actua inhibint els canals de K⁺, s'observà que l'addició d'aquest compost a illots pancreàtics implica una disminució en l'activitat de SOD i CAT en comparació amb cèl·lules control (Figura 8). Aquesta evidència indica que la inhibició dels canals de K⁺ (i la conseqüent obertura dels canals de Ca²⁺) podria estar directament relacionada amb una disminució dels nivells d'ERO cel·lular, de manera que l'activitat dels enzims antioxidants no resulta tan necessària. Es conclou l'estreta relació entre el funcionament dels canals de K⁺ i Ca²⁺ a les cèl·lules pancreàtiques, i la conseqüent capacitat secretora d'aquestes amb l'estrès oxidatiu cel·lular i l'expressió d'enzims antioxidants²⁶.

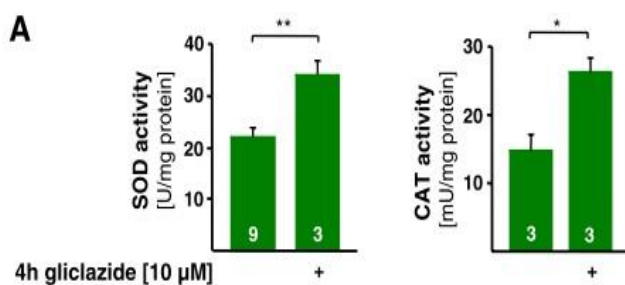


Figura 8. Efecte de la subministració de gliclazida a illots pancreàtics sobre l'activitat dels enzims SOD i CAT en comparació amb cèl·lules control (+). Imatge adaptada de (29).

Aquests resultats proven el paper de les ERO sobre diferents vies que culminen amb la disfunció de les cèl·lules β-pancreàtiques i, conseqüentment, amb l'evolució de la resistència a la insulina. Els descobriments donaren peu al desenvolupament de noves teràpies, com per exemple l'ús de la curcumina, un inhibidor d'IKKβ. Resultats d'investigacions recents no només demostren una millora dels paràmetres de secreció d'insulina i glucosa sèrica a humans subministrats amb curcumina, sinó que també s'observaren beneficis sobre les alteracions associades amb la diabetis, com les complicacions vasculars^{30,31}.

Per una altra banda, la gliclazida abans esmentada és un fàrmac que s'administra avui en dia a pacients amb DMT2³². Tot i la seva popularitat, als darrers anys s'han realitzat assajos clínics on es comparen els efectes de la gliclazida amb altres fàrmacs com la liraglutida i la metformina en pacients amb DMT2. Els resultats mostren una millora de paràmetres com la hemoglobina glicosilada, el greix intrahepàtic i el pes corporal en el cas dels pacients subministrats amb liraglutida en comparació amb els administrats amb gliclazida, demostrant que, tot i ser un fàrmac amb una diana clau per al tractament de la DMT2, la gliclazida podria ser desplaçada per altres fàrmacs anti-diabètics més específics. Així, l'excés d'ERO a les cèl·lules β sembla tenir un paper clau a l'hora de desencadenar els processos que acaben provocant la seva disfunció i conseqüent apoptosi, de manera que la majoria de teràpies es basen amb l'ús de molècules antioxidants a causa del pes que sembla tenir l'estrès oxidatiu en el desenvolupament d'aquesta malaltia.

Estrès oxidatiu i expressió de miRNAs involucrats amb l'evolució/protecció enfront la diabetis

Investigacions recents mostren una possible relació entre l'estrès oxidatiu i l'expressió de miRNAs involucrats amb l'evolució de la diabetis³³. Concretament, destaca miR-21: aquest es troba incrementat al plasma d'individus amb DMT2. Els resultats (*Figura 9a*) mostren com miR-21 es troba augmentat al plasma d'individus amb intolerància a la glucosa i amb DMT2, en comparació amb individus normo-tolerants a la glucosa³⁴. Addicionalment, els investigadors determinaren les concentracions d'espècies reactives d'oxigen i SOD2 als mateixos individus (*Figura 9b i 9c*). Els resultats indiquen una major concentració d'ERO als individus diagnosticats amb DMT2 en comparació amb els intolerants i normo-tolerants a la glucosa. A més, la concentració de l'enzim antioxidant SOD2 es troba disminuït als pacients amb DMT2 i intolerància a la glucosa, demostrant que aquests tenen més susceptibilitat al dany causat per les ERO degut a la falta de protecció antioxidant. Amb aquests resultats, els autors estableixen una relació probable entre un augment d'estrès oxidatiu a DMT2 i una major concentració de miR-21. Gràcies als resultats obtinguts en el cas dels individus intolerants, els autors conclouen el possible ús del miR-21 com a biomarcador temprà per a la detecció de DMT2³⁴.

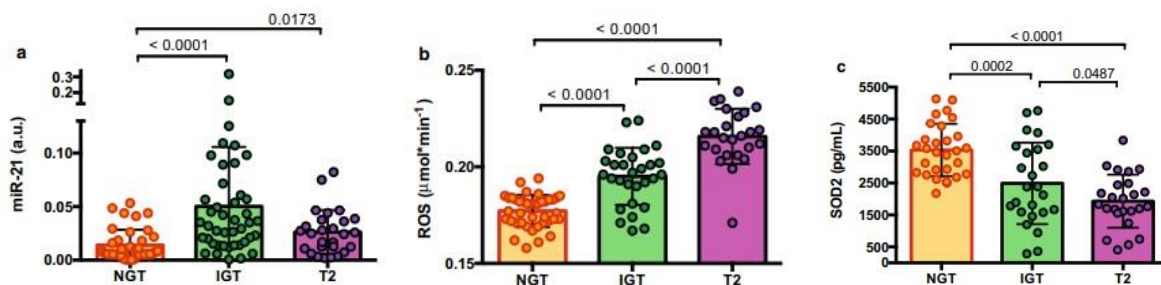


Figura 9. Comparació entre la concentració de miR-21, espècies reactives d'oxigen (ROS) i SOD2 a individus normo-tolerants a la glucosa (NGT), intolerants a la glucosa (IGT) i amb diabetis tipus 2 (T2). Imatge adaptada de (34).

Contràriament, s'ha trobat l'existència de miRNAs amb efectes protectors a individus amb diabetis, com el cas de miR-9³³. Segons investigacions recents, miR-9 inhibeix la mort a cèl·lules cardíaques (piroptosi) en cultiu. Aquests descobriments tenen especial rellevància a causa de que la cardiomiopatia diabètica és una de les complicacions associades a la DMT2.

En aquest estudi, els investigadors demostraren com miR-9 inhibeix l'activació d'*ELAV like protein 1* (ELAVL1), una proteïna d'unió a RNA. ELAVL1 activa la caspasa-1 encarregada, en darrera instància, d'induir la piroptosi. A més, els investigadors demostren que la hiperglucèmia és capaç d'activar la resposta inflamatòria, que jugarà un paper important a l'hora de contribuir a la mort de les cèl·lules cardíaques. Aquests resultats permeten considerar el potencial terapèutic de miR-9 a pacients amb DMT2 que presenten complicacions cardíaques, evitant la pèrdua de teixit cardíac per piroptosi³⁵.

Als darrers anys s'ha presenciat un important creixement en les investigacions basades amb miRNAs, ja que aquests, en molt casos, poden servir com a biomarcadors per multitud de malalties. Segons els resultats presentats, extrets d'investigacions dels darrers 4 anys, els miRNAs semblen aportar un punt de vista més a l'enteniment de la fisiopatologia de la DMT2, de manera que cada vegada es podrà caracteritzar amb més detall aquesta malaltia metabòlica tan heterogènia. A l'apartat de perspectives de futur, s'entra més en detall sobre les darreres investigacions basades en miRNAs, ja que aquestes estan augmentant exponencialment als darrers anys gràcies als avenços tecnològics.

6.2 Estrès oxidatiu i malalties neurodegeneratives. Enfoc en la malaltia d'Alzheimer

TNF i neuroinflamació: el paper de TNFR

Segons un estudi realitzat en ratolins amb Alzheimer triple transgènic (homozigots 3xTg-AD; knockdown per a la presenilina, proteïna precursora amiloide i tau³⁶), la inhibició global a llarg termini de TNFR1 i TNFR2, sense especificitat pel tipus o fase cel·lular, resulta en una complicació de la patologia³⁷: això dona suport a la teoria del paper neuroprotector de TNF a la malaltia d'Alzheimer. Mitjançant l'ús de siRNAs específics, es prova de silenciar la via de TNF de manera més precisa. Els resultats indicaren que la senyalització de TNFR és complexa, de manera que és poc probable que fàrmacs inhibidors de TNF- α que suprimeixen la seva senyalització de manera general, sense tenir en compte el tipus cel·lular o receptor concret, puguin servir com a teràpia per a malalties com l'Alzheimer³⁷. Els resultats s'obtingueren mesurant la quantitat de PHF (filaments helicoidals aparellats (*paired helical filament*), formats per agregats de proteïna tau hiperfosforilada i característics de malalties neurodegeneratives) per mitjà d'intensitat de píxels a una mostra de cervell de ratolí, més concretament a CA1: Cornu Ammonis 1, una regió de l'hipocamp (*Figura 10*). S'emprà siScr, una seqüència sense especificitat per cap regió del genoma de ratolí, com a control negatiu (primera barra a la *Figura 10*). Els resultats mostren que la inhibició de TNFR2 mitjançant siRNAs específics implica un augment en la quantitat de PHF. En canvi, quan es silencien conjuntament TNFR1 + R2, els nivells de PHF disminueixen dràsticament, de la mateixa manera que en cas de silenciar només TNFR1. A més, els investigadors trobaren evidència de que els efectes del silenciament sobre la quantitat de plaques A β_{42} varia amb l'edat a la que s'injecta el siRNA als ratolins.

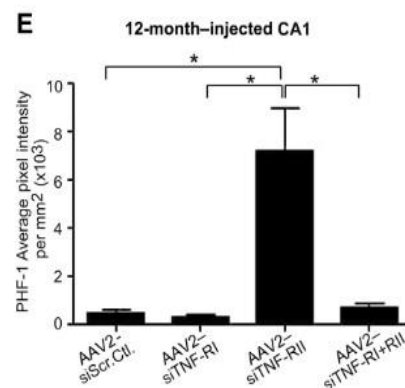


Figura 10. El knockdown de TNF-R2 implica un augment en la formació de PHF en comparació amb els knockdown per a TNF-R1 i TNF-R1 + R2 a CA1. Imatge adaptada de (37).

Els resultats (*Figura 11*) mostren diferències en la quantitat de píxels de plaques $A\beta_{42}$ a ratolins injectats amb 2 o 12 mesos de vida. També s'observen diferències en funció de la regió de l'hipocamp analitzada: CA1 o Subiculum. Amb aquests resultats es conclou que TNF juga un paper clau a l'hora del desenvolupament de malalties neurodegeneratives, però la seva via de senyalització roman un punt important d'investigació en quant a teràpies per aquests tipus de patologies³⁷.

Els resultats analitzats indiquen que existeixen diferències en l'aparició de biomarcadors d'Alzheimer, com PHF o $A\beta_{42}$, en funció del receptor que es silencia, el moment del desenvolupament i la regió concreta de l'hipocamp que s'analitza. Aquests resultats mostren la complexitat de la via de senyalització de TNF, que roman una incògnita, de manera que es desconeix sota quines condicions proporciona un paper neuroprotector i sota quines altres provoca dany neuronal.

A més, per tal de poder dissenyar fàrmacs concrets que puguin inhibir TNF de manera específica al SNC, cal tenir en compte la limitació de la barrera hematoencefàlica: no totes les substàncies són capaces de travessa-la. Tot i això, investigacions recents apunten cap als antioxidants com la vitamina E o l'àcid α -lipoic²⁰ com a inhibidors de l'estrès oxidatiu i del TNF perifèric, de manera que es redueix la secreció de TNF per part de la micròglia al SNC²⁰. Com a conclusió, tot i estar relacionat amb un procés inflamatori, no cal desvincular TNF de la producció d'ERO, ja que la seva connexió té cada vegada més suport.

D'aquesta manera, segons l'evidència presentada, TNF és una diana clara per al tractament de malalties neurodegeneratives com l'Alzheimer, jugant un paper clau en la producció d'ERO i neuroinflamació.

Estrès oxidatiu i formació de plaques β -amiloides: via JNK i p38

L'estrès oxidatiu cel·lular contribueix a la formació de plaques $A\beta$, ja que les ERO tenen la capacitat d'incrementar l'activitat dels enzims proteolítics β i γ -secretasa³⁸. S'ha trobat evidència de que una acumulació de 4-hidroxilnonenal (HNE), un subproducte de la peroxidació lipídica, intensifica l'expressió de la β -secretasa³⁹. Els resultats (*Figura 12*) mostren com diferents concentracions d'HNE (0,5-5 μ M) incrementen tant la producció com secreció d' $A\beta_{40}$ i $A\beta_{42}$ a la línia cel·lular NT₂ de neurones diferenciades.

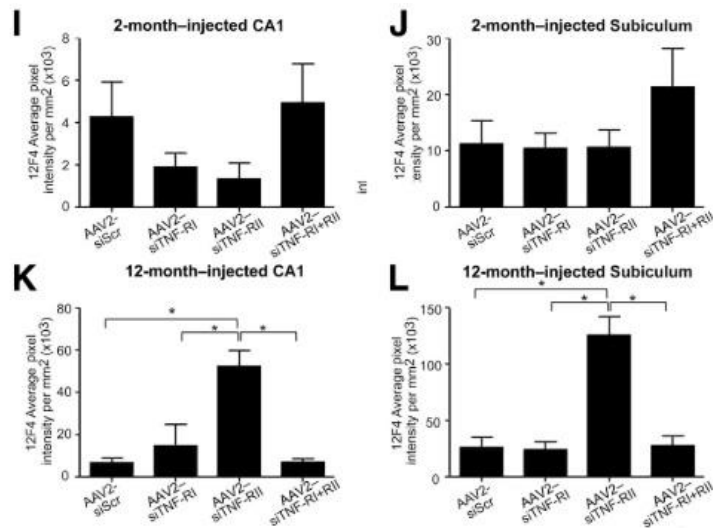


Figura 11. Variació en la deposició de plaques $A\beta_{42}$ segons el moment d'injecció del siRNA a mostres de CA1 i Subiculum. Imatge adaptada de (37).

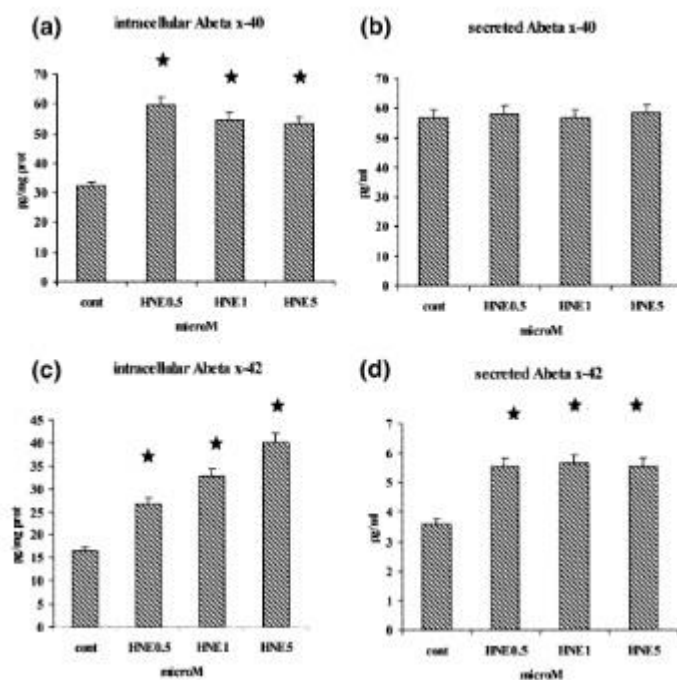


Figura 12. Efecte de diferents concentracions d'HNE (0,5-5 μ M) sobre la secreció i producció d'A β ₄₀ i A β ₄₂ a la línia cel·lular NT₂. Imatge adaptada de (39).

A més, els investigadors volgueren demostrar quin és el mecanisme cel·lular que condueix a l'increment de β -secretasa. Partiren de dues hipòtesis: la via involucrada és la JAK/STAT o la JNK i p38. Els resultats s'obtingueren mitjançant l'ús d'inhibidors específics (AG490, i SP600125 i SB203580, respectivament) per cada una de les vies. S'observà que no existeixen canvis en les concentracions d'HNE neuronal en cas d'inhibir la via JAK/STAT, de manera que aquesta no és l'encarregada de controlar aquest procés. En canvi, en cas d'inhibir la via JNK i p38, els nivells cel·lulars d'HNE baixen considerablement (Figura 13), demostrant que aquesta via domina la sobreexpressió de la β -secretasa, i és el punt clau a tenir en compte de cara al disseny de tractaments³⁹.

Els resultats presentats en relació amb l'efecte de les ERO sobre la formació d'A β tenen especial rellevància ja que s'ha demostrat l'existència d'una retroalimentació positiva d'aquest procés, de manera que les pròpies A β tenen la capacitat de produir ERO², i aquestes incrementar la producció d'ERO mitjançant el mecanisme descrit anteriorment. D'aquesta manera, l'efecte de les ERO sobre la formació de les plaques β -amiloides té cada vegada més pes. Tot i això, existeix evidència de que la via JNK es troba activada en excés únicament en ratolins transgènics amb dany oxidatiu avançat, i no tant amb ratolins on es comença a produir el dany oxidatiu³⁹.

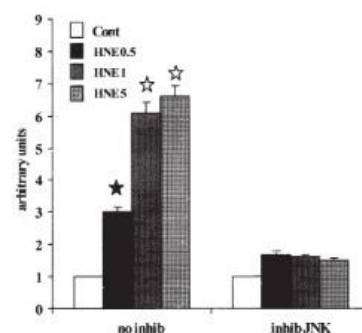


Figura 13. Efecte de la inhibició de la via JNK amb SP600125 sobre l'expressió de la β -secretasa. Imatge adaptada de (39).

Atès que la malaltia d'Alzheimer sol aparèixer a causa de dany oxidatiu acumulat al llarg de vida de l'individu²², cal tenir present aquesta via i el paper dels productes de la peroxidació lipídica, ja que com han demostrat Tamagno et al³⁹, existeixen fàrmacs específics inhibidors que permeten bloquejar la via d'expressió de la β -secretasa. Tenint en compte que aquests experiments s'han realitzat *in vitro*, s'ha de considerar que la via JNK participa en multitud de processos essencials per a la supervivència cel·lular, i el disseny de fàrmacs inhibidors d'aquesta via haurien de poder assegurar la supervivència alhora que inhibeixen la formació de plaques β -amiloides.

Mutacions al DNA mitocondrial causades per estrès oxidatiu i alteracions en la formació d'ATP

Les ERO, a més, actuen sobre el DNA mitocondrial (mtDNA) provocant, sobre tot, delecions i mutacions puntuals. Tot i que aquests tipus d'alteracions del material genètic tenen un efecte clar sobre el funcionament de la cadena de transport electrònic, a causa de que les mitocondries contenen múltiples còpies del seu DNA propi, es requereix que aquestes mutacions sobrepassin un llindar, de manera que les còpies afectades superin les còpies salvatges a l'òrganul cel·lular. Una de les mutacions clau és la involucrada amb la funcionalitat de la citocrom c oxidasa (COX)⁴⁰. S'ha trobat evidència d'una disminució de l'activitat d'aquest

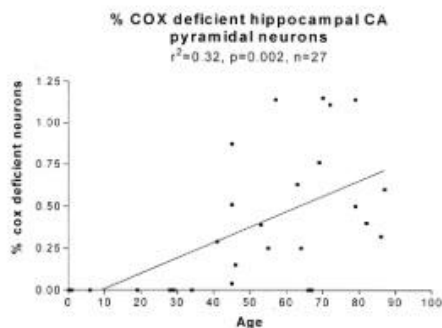


Figura 14. Correlació entre la deficiència de COX a neurones de l'hipocamp (CA) amb l'edat dels individus a partir dels quals s'obtingueren les mostres. Imatge adaptada de (40).

complex, degut a mutacions, a tres de les tretze subunitats de la proteïna codificades pel mtDNA en cervells de pacients amb Alzheimer. A més, a la mateixa investigació (Figura 14), demostren que la deficiència de COX funcional a neurones de l'hipocamp segueix una tendència lineal amb l'edat dels individus a partir dels quals s'obtingueren les mostres de cervell, de manera que les disfuncions a COX estan relacionades amb l'envelliment.

El mtDNA és especialment susceptible a l'acció de les ERO en comparació amb el DNA nuclear, ja que aquest es troba just al punt calent de producció de les ERO: la mitocondria. A causa de dany al mtDNA, s'arriba a una situació de disfunció mitocondrial, de manera que la producció d'ERO augmenta, generant-se un cicle de retroalimentació positiva². Les mutacions al mtDNA s'acumulen al llarg de l'individu, aquest fet explica la major incidència de malalties neurodegeneratives a poblacions d'edat avançada. A causa d'aquestes mutacions, es produeix una alteració en la síntesi d'enzims mitocondrials, ja que la majoria d'aquests es troben codificats al mtDNA, afectant sobre tot als processos d'obtenció d'energia. A més, les ERO tenen un efecte directe sobre els enzims mitocondrials, de manera que s'ha trobat evidència d'una activitat alterada del cicle de Krebs a cervell aïllat de pacients amb Alzheimer, on en trobaren reduccions en l'activitat de la isocitrat deshidrogenasa i a la α -cetoglutarat deshidrogenasa. Degut a una menor producció d'ATP, la mitocondria no podrà fer front a la demanda energètica, provocant l'alteració de processos essencials com l'autofàgia i la sinapsi⁴⁰. Tal i com s'ha comentat anteriorment, la relació entre envelliment i aparició de malalties neurodegeneratives és cada vegada més evident, de forma que les alteracions a COX podrien considerar-se un dels factors de risc per al desenvolupament de patologies com Alzheimer o Parkinson⁴¹.

Una disfunció a COX provoca una evident alteració mitocondrial que compromet la correcta formació d'ATP cel·lular, a més d'incrementar la formació d'ERO^{42,43}. La importància de l'abastiment d'ATP cel·lular al SNC és clau, ja que és un òrgan amb una gran demanda energètica. Una de les conseqüències que pot tenir la disminució d'ATP a neurones deficientes en COX és la reducció de la comunicació cèl·lula-cèl·lula via la sinapsi²². Degut a que l'Alzheimer es caracteritza per una disminució d'aquest procés degut a la mort neuronal⁴⁴, s'estableix una possible relació entre l'impacte de les ERO sobre el mtDNA, provocant mutacions que afecten la correcta expressió d'enzims com COX amb l'aparició d'Alzheimer.

6.3 Relació entre diabetis i Alzheimer: denominadors comuns

Paper de la insulina al SNC

Segons investigacions recents, la insulina regula funcions biològiques essencials al SNC, com l'atenció, l'aprenentatge i la memòria²⁵. En contradicció amb evidències anteriors, el cervell de ratolí expressa el receptor d'insulina, el receptor 1 del IGF i el IRS1 i 2. (*Figura 15*). Curiosament, ratolins knockdown per IGF1R al cervell mostren una reducció de la mida cerebral, alteracions generals al seu comportament i discapacitat intel·lectual⁴⁵. Addicionalment, s'han publicat investigacions que demostren una reducció en l'expressió i activació del receptor d'insulina, IGF1R i IGF2R a mostres postmortem de cervell de pacients amb Alzheimer (*Figura 16*)⁴⁶. Segons Steen et al., aquests descobriments permeten establir una relació entre la resistència a la insulina deguda a una menor expressió dels seus receptors al SNC amb l'evolució de l'Alzheimer, de manera que es comença a classificar aquesta malaltia com una patologia més bé neuro-endocrina, a causa de l'evidència que connecta DMT2 i Alzheimer⁴⁶.

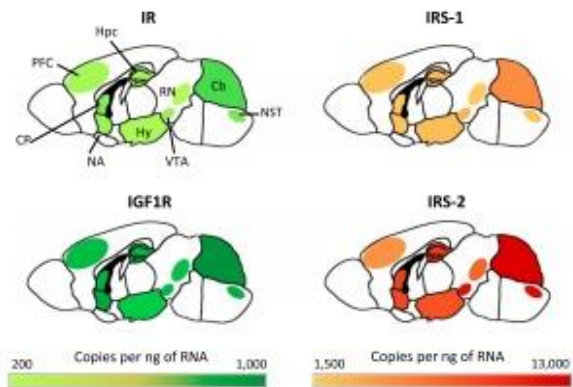


Figura 15. Expressió d'IR, IGF1R, IRS-1 i IRS-2 a cervells de ratolí. Dades determinades mitjançant PCR a temps real. Cb: cerebel; CP: putamen; Hpc: hipocamp; NA: nucli accumbens; NST: nucli del tracte solitari; PFC: còrtex prefrontal; RN: nucli del rafe; VTA: àrea tegmental ventral. Imatge adaptada de (45).

Lligant amb l'evidència presentada a l'apartat 6.2, l'abastiment d'ATP neuronal és fonamental per al seu correcte funcionament, ja que controla processos essencials com la sinapsi o l'autofàgia²². Yin et al.⁴⁷ recalquen la importància d'un correcte metabolisme glucídic a les neurones per poder garantir el seu funcionament. Segons aquests autors, el metabolisme energètic alterat és un dels punts distintius en malalties com l'Alzheimer. L'evidència presentada sobre el paper de la insulina al SNC podria relacionar-se amb aquest fet, de manera que una menor captació de glucosa per part de les neurones a causa d'una senyalització aberrant d'aquesta via podria comprometre el metabolisme glucídic neuronal. Aquest fet també està recolzat pel descobriment d'una menor expressió de GLUT3 a neurones de pacients amb Alzheimer⁴⁸.

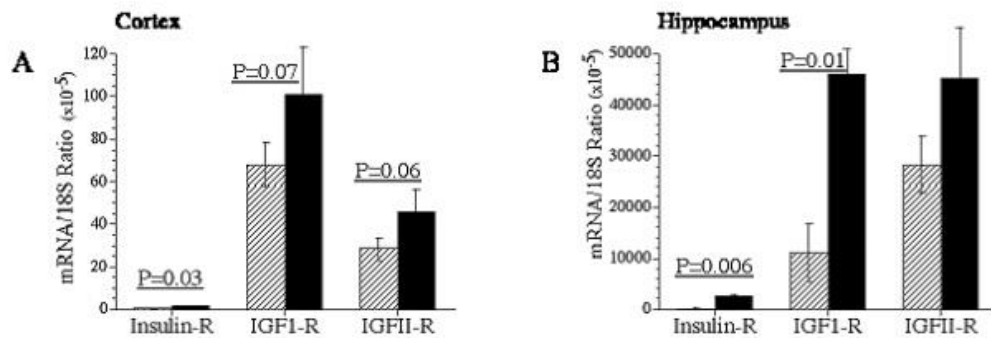


Figura 16. Expressió del receptor d'insulina (IR) i dels receptors 1 i 2 del factor de creixement semblant a la insulina (IGFI-R i IGFI-R) a mostres postmortem de cervell (còrtex i hipocamp) de pacients amb Alzheimer (barra gris) en comparació amb mostres control (barra negra). Imatge adaptada de (46).

Aquest transportador duu a terme la captació de glucosa independent d'insulina, de manera que la seva expressió a la baixa en patologies neurodegeneratives dona suport a la importància de la captació de glucosa insulino-dependent a les neurones. Tenint en compte que la insulina també juga un paper afavorint els processos fisiològics d'aprenentatge i memòria, podria establir-se una relació entre la resistència a la insulina i la menor expressió dels seus receptors al SNC amb l'evolució de l'Alzheimer. Tot i això, cal destacar que, a causa de la complexitat de les dues patologies, encara no és clar si la resistència a la insulina és una causa o una conseqüència de l'aparició/evolució de l'Alzheimer²⁵, encara que la relació entre les dues patologies està cada vegada més recolzada. Contrastant amb l'evidència exposada al llarg del treball, l'estrès oxidatiu característic de les dues malalties sembla ser un dels denominadors comuns a l'hora d'explicar la seva relació.

Resistència a la insulina i formació de plaques β -amiloides

Cada vegada més s'està demostrant una relació entre la resistència a la insulina al cervell amb la formació i acumulació de plaques β -amiloides a causa d'estrès oxidatiu i neuroinflamació. A més, la toxicitat de les plaques β -amiloides podrien causar resistència a la insulina. Com ja s'ha exposat abans, el fet de que la resistència a la insulina sigui una causa o una conseqüència de la progressió de l'Alzheimer encara es desconeix⁴⁹. Gasparini et al., mitjançant línies cel·lulars de neuroblastoma (N2a) transfectades amb proteïna precursora β -amiloide humana (β APP695), demostren com la insulina redueix la concentració intracel·lular d'A β 40 i A β 42⁵⁰.

A la Figura 17 es representen els resultats obtinguts. Les cèl·lules tractades amb insulina a les 16h (Figura 17a) presenten una menor concentració d'A β 1-40/42 en comparació amb les cèl·lules control. En contrastar aquest efecte amb el mateix tractament durant 4h (Figura 17b), s'observa com la insulina sembla tenir un efecte disminuint la concentració intracel·lular de plaques d'A β 40 i A β 42. A més, els investigadors troben evidència de que la insulina redueix l'A β present al Golgi, la principal localització cel·lular on es formen els pèptids A β . Així, la insulina té la capacitat de promoure el transport vesicular del Golgi cap a la membrana plasmàtica, disminuint la concentració d'A β dins les neurones. Amb aquests resultats, els autors conclouen el paper de la insulina en el tràfic cel·lular dels pèptids β -amiloides⁵⁰.

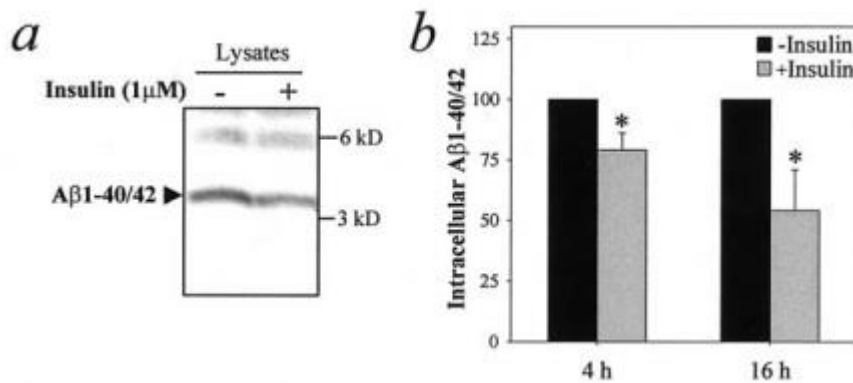


Figura 17. Determinació de la presència d'Aβ1-40/42 a lisats de línia cel·lular N2a tractats amb insulina. Resultats obtinguts per immunoprecipitació amb l'anticòs 6E10 contra Aβ1-40/42 a les 16h del tractament amb insulina (a) i a les 4 i 16h del mateix tractament (b). Imatge adaptada de (50).

A més, investigacions recents mostren una relació entre la resistència a la insulina, la formació aberrant de plaques β-amiloides i l'activació constitutiva de la via JNK. Resultats obtinguts a partir de cultius cel·lulars de neurones de l'hipocamp amb oligòmers d'Aβ mostren un elevat nivell de IRS1 fosforilada a residus de serina. Aquesta fosforilació bloqueja el mecanisme de transducció de senyal de la insulina i es duu a terme per mitjà de la via JNK⁵¹. Segons Zhou et al. i mitjançant ratolins doble transgènics APP/PS1, els agregats d'Aβ són capaços de generar resistència a la insulina a macròfags intestinals mitjançant l'activació de la via JNK, de manera que s'incrementa la concentració de IRS fosforilada. Els autors conclouen que la via JNK i els seus inhibidors podrien resultar en una possible teràpia contra la resistència a la insulina derivada d'Alzheimer⁵².

La connexió entre la resistència a la insulina i la formació de plaques β-amiloides, així com la relació inversa sembla tenir cada vegada més pes. Els resultats de Gasparini et. al. mostren com la insulina té la capacitat de promoure el trànsit vesicular al Golgi de manera que els pèptids amiloides s'acumulen a l'exterior cel·lular. Tot i que aquest fet implica un benefici per a la neurona, ja que d'aquesta manera evita totes les complicacions associades a la formació de plaques β-amiloides, es desconeix quins efectes té l'acumulació d'aquestes substàncies a l'exterior cel·lular. En quant a la relació de la resistència a la insulina i el desenvolupament i progressió de l'Alzheimer, varis autors senyalen que la secreció d'insulina decreix amb l'edat. Com ja s'ha comentat al llarg d'aquest treball, les malalties neurodegeneratives com l'Alzheimer apareixen a causa, principalment, de dany oxidatiu i mutacions al mtDNA acumulades al llarg de la vida, per tant, la possible relació entre les dues patologies sembla tenir com a denominador comú l'edat avançada dels individus que les pateixen.

En darrer lloc, cal recalcar l'activació de la via JNK per mitjà d'acumulació d'estrès oxidatiu cel·lular presentada a l'apartat 5.2. Amb els resultats aportats, sembla existir una relació entre la resistència a la insulina, la formació de plaques β-amiloides i l'estrès oxidatiu cel·lular, de manera que JNK és el factor que lliga els tres conceptes.

Resistència a la insulina i hiperfosforilació de tau

Mitjançant ratolins knockout per IRS2, Schubert et al. demostren que una inhibició de la via de senyalització de la insulina al cervell implica la hiperfosforilació de tau mitjançant l'activació aberrant de la GSK3⁹. Segons els resultats (Figura 18), tau fosforilada a Ser202 es troba incrementada als ratolins deficientes en IRS2. En quant a tau fosforilada a Thr231, no es troben resultats significatius. Segons els investigadors, i recolzant l'argument amb altres autors, la fosforilació de tau a Ser202 té més pes a l'hora d'induir neurodegeneració que no la fosforilació a Thr231. A més, en el cas dels animals knockout per

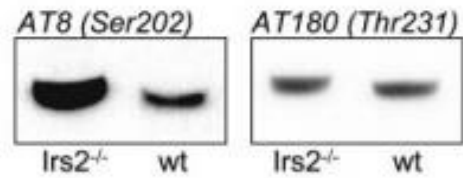


Figura 18. Expressió diferencial de Tau fosforilada a Ser202 i detectada amb l'anticòs AT8 i Tau fosforilada a Thr231 i detectada amb l'anticòs AT180 a lisats de cervell de ratolins knockdown (*Irs2*^{-/-}) i salvatges (*wt*) per IRS2. Imatge adaptada de (9).

per IRS2, tant tau fosforilada a Ser202 com tau fosforilada a Thr231 tenen un migració lleugerament menor que en el cas del ratolins salvatges. Aquest fet dona suport a la correcta fosforilació de tau i al conseqüent augment del seu pes molecular⁹. Per donar més suport al seus resultats, els autors analitzen si tau fosforilada s'acumula al cervell dels ratolins, més concretament a CA1 i al cos estriat (Striatum) (Figura 19). A causa de que els ratolins knockout

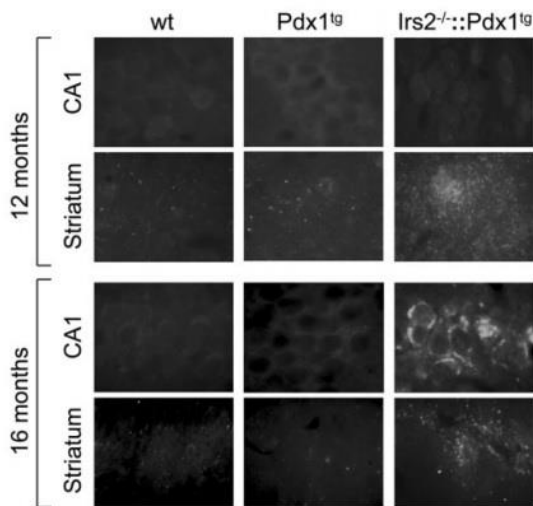


Figura 19. Presència de tau fosforilada a Ser202 detectada mitjançant immunotinció amb l'anticòs AT8 a ratolins salvatges (*wt*), ratolins *Pdx1*^{tg} i ratolins *Irs2*^{-/-}::*Pdx1*^{tg} de 12 i 16 mesos de vida en mostres de CA1 i Striatum. Imatge adaptada de (9).

per IRS2 morien entre les setmanes 10 i 15 de vida com a conseqüència de la diabetis provocada per la seva modificació genètica, aquests es creuaren amb ratolins *Pdx1*, un model transgènic que expressa el factor de transcripció *Pdx1*, essencial per a la funcionalitat de les cèl·lules β -pancreàtiques, de manera que s'obtenen els ratolins *Irs2*^{-/-}::*Pdx1*^{tg}. Els resultats obtinguts (Figura 19) mitjançant l'ús de l'anticòs AT8 (específic contra tau fosforilada a Ser202) mostren com els ratolins *Irs2*^{-/-}::*Pdx1*^{tg} tendeixen a acumular més tau fosforilada a Ser202 tant a CA1 com a Striatum, i que aquesta acumulació augmenta amb l'edat dels animals. A més, Schubert et al. demostren que els ratolins *Irs2*^{-/-}::*Pdx1*^{tg} presenten una mida més reduïda als seus cervells en comparació amb els animals salvatges. D'aquesta manera, els autors conclouen la possible relació entre la

desregulació de la via de senyalització de la insulina amb l'aparició de malalties neurodegeneratives, més concretament l'Alzheimer, ja que les acumulacions de proteïna tau hiperfosforilada i la formació de filaments helicoidals aparellats són característics d'aquesta patologia⁹.

Per determinar el paper de GSK3 a la hiperfosforilació de tau i la seva implicació en aquest procés, Lovell et al.⁵³ proven l'efecte de l'addició de Fe²⁺/H₂O₂ com a inductors d'estrès oxidatiu cel·lular sobre la hiperfosforilació de tau i l'activitat de la GSK3. Els seus resultats mostren com una addició de Fe²⁺/H₂O₂ sobre un cultiu de neurones de rata implica un increment en la fosforilació de tau, així com un augment en l'activitat de la GSK3.

A més, en cas d'afegit un compost inhibidor de la GSK3, el liti, l'activitat de la GSK3 es redueix considerablement, com també es redueix la presència de tau fosforilada. Segons aquests resultats, els autors conclouen que un increment en l'activitat de GSK3 a causa d'estrès oxidatiu està relacionat amb la hiperfosforilació de tau en models animals⁵³.

Els resultats presentats indiquen una possible relació entre quatre factors: una menor senyalització de la via de la insulina, tau hiperfosforilada, l'activitat de la GSK3 i l'estrès oxidatiu. Segons l'evidència aportada, és possible que existeixi una relació entre aquests quatre factors, però cal recalcar que els resultats només han estat provats en models animals. A més, en el cas dels resultats obtinguts per Lovell et al., no s'especifica el lloc de fosforilació concret de tau que, segon Schubert et al., té especial rellevància, ja que tau fosforilada a Ser202 sembla tenir major pes en la inducció de la neurodegeneració. Per una altra banda, s'ha vist que la via de senyalització de la insulina és important per a la correcta formació de tau normal. D'aquesta manera, quan aquesta està alterada per una resistència a la insulina, per exemple, la falta de tau normal i l'acumulació de tau hiperfosforilada mitjançant el mecanisme descrit anteriorment condueix a la formació de fibres insolubles de tau que provoquen el col·lapse del citoesquelet neuronal i disfuncions a la sinapsi⁴⁹. Com a conclusió, existeix una possible relació entre una disfunció a la via de senyalització de la insulina amb l'aparició de filaments helicoidals aparellats característics de malalts amb Alzheimer. L'estrès oxidatiu sembla jugar un paper com a denominador comú entre les dues malalties a causa del seu efecte sobre GSK3.

7. Perspectives de futur

Tot i que la patologia molecular concreta de cadascuna de les malalties encara no ha estat completament elucidada, l'estrès oxidatiu és un dels candidats principals que puguin explicar el desenvolupament de la diabetis o l'Alzheimer. És per això que la teràpia amb antioxidants resulta cada vegada més útil per al tractament d'aquestes.

Un grup d'antioxidants emprat per al tractament de l'Alzheimer són els polifenols. Aquests tenen la capacitat d'entrar al SNC, travessant la barrera hematoencefàlica, i actuar neutralitzant les ERO. El seu mecanisme d'acció es basa en la formació d'un estrès oxidatiu lleu, de manera que l'organisme intenta eliminar-lo regulant a l'alça gens protectors mitjançant el factor nuclear NRF2. Tot i que aquesta teràpia ha donat resultats satisfactoris en models animals, encara no s'ha traslladat a humans¹³.

Com ja s'ha comentat anteriorment, l'obesitat és un factor de risc en quant al desenvolupament de la diabetis. A causa de la creixent evidència d'una possible relació entre les dues malalties, els canvis de dieta i estil de vida en pacients amb Alzheimer resulta una alternativa en cas de falta d'efectivitat amb la teràpia antioxidant. Segons els resultats obtingut amb l'aplicació d'aquests canvis i la incorporació d'activitat física, s'han aconseguit efectes positius en quant a la capacitat cognitiva de pacients amb Alzheimer^{5,13}.

En darrer lloc, els miRNAs han suposat una revolució en quant a la investigació i recerca de biomarcadors per a multitud de malalties. Tant la diabetis com l'Alzheimer tenen miRNAs propis associats a l'evolució de la seva fisiopatologia. Tot i això, la possible relació entre les malalties explicada en base als miRNAs és encara dubtosa a causa de l'elevada quantitat de miRNAs existents associats amb patologies que s'han pogut elucidar als darrers anys.

A causa de que els miRNA suposen un descobriment recent, no cal descartar avenços en aquesta branca que puguin arribar a relacionar, no només la diabetis i l'Alzheimer, sinó multitud d'altres patologies multifactorials⁵⁴.

8. Conclusió

Amb la realització d'aquest treball s'ha pogut arribar a tres conclusions concretes. En primer lloc, la diabetis és una malaltia multifactorial en la que l'estrès oxidatiu juga un paper clau. Els principals factors que sustenten aquesta relació són la via inflamatòria IKK β /NF- κ β , que es troba activada de forma aberrant, la inhibició dels canals de Ca²⁺ i el possible paper de miRNAs concrets.

En quant a la relació de l'Alzheimer amb l'estrès oxidatiu cal mencionar TNF, que juga un paper dual i sembla aportar tant beneficis com inconvenients per al desenvolupament d'aquesta malaltia, la via JNK i les mutacions al mtDNA.

L'evidència sembla demostrar que la connexió entre les dues malalties està governada per l'impacte de la resistència a la insulina sobre la formació de plaques β -amiloides i proteïna tau hiperfosforilada al SNC. Tot i aquests descobriments i la creixent atenció sobre la relació entre diabetis i Alzheimer, les causes concretes que puguin atribuir-se a aquesta connexió romanen encara incògnites.

9. Bibliografia

1. Liguori, I., Russo, G., Curcio F. et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging* vol. 13 757–772 (2018).
2. Fischer, R., Maier, O. Interrelation of oxidative stress and inflammation in neurodegenerative disease: role of TNF. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* vol. 2015 610-628 (2015).
3. Zhang, J., Wang, X., Vikash, V. et al. ROS and ROS-Mediated Cellular Signaling. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* vol. 2016, 18 (2016).
4. Singh, A., Kukreti, R., Saso, L. et al. Oxidative stress: A key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules* vol. 24 1583 (2019).
5. Khan, R., Chua, Z., Tan, J. et al. From pre-diabetes to diabetes: Diagnosis, treatments and translational research. *Medicina (Lithuania)* vol. 55 546 (2019).
6. Otto-Buczowska, E., Jainta, N. Pharmacological treatment in diabetes mellitus type 1 - insulin and what else? *International Journal of Endocrinology and Metabolism* vol. 16 7 (2018).
7. Yaribeygi, H., Sathyapalan, T., Atkin, S. et al. Molecular Mechanisms Linking Oxidative Stress and Diabetes Mellitus. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* vol. 2020 13 (2020).
8. Fu, Z., R. Gilbert, E., Liu, D. Regulation of Insulin Synthesis and Secretion and Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes. *Current Diabetes Reviews* vol. 9 25–53 (2012).
9. Schubert, M., Brazil, D., Bruks, D. et al. Insulin receptor substrate-2 deficiency impairs brain growth and promotes tau phosphorylation. *The Journal of Neuroscience* vol. 23, 7084–7092 (2003).
10. WHO. Las 10 principales causas de defunción. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (2018). Accés: 20/06/2020
11. Deshpande, A. D., Harris-Hayes, M., Schootman, M. Epidemiology of Diabetes and Diabetes-Related Complications. *Physical Therapy* vol. 88 1254–1264 (2008).
12. Fundación Diabetes. La diabetes en España. <https://www.fundaciondiabetes.org/prensa/297/la-diabetes-en-espana>. Accés 20/06/2020
13. Butterfield, D., Halliwell, B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. *Nature Reviews Neuroscience* vol. 20 148–160 (2019).
14. Calderon-Garcidueñas, A., Duyckaerts, C. Alzheimer disease. *Handbook of Clinical Neurology* vol. 145 325–337 (2018).

15. Muñoz, F. El péptido β -amiloide : mecanismos de neurotoxicidad . Neuroprotección por antioxidantes y estrógenos. *Revista Española de Geriatria y Gerontología* vol. 36, 109–116 (2001).
16. García, T., Jay, D. Fosforilación de tau y enfermedad de Alzheimer. *Gaceta Méd.ica de México* vol. 140 15 (2004).
17. Sochocka, M., Diniz, B., Leszek, J. Inflammatory Response in the CNS: Friend or Foe? *Molecular Neurobiology* vol. 54 8071–8089 (2017).
18. Hsieh, H., Yang, C. Role of redox signaling in neuroinflammation and neurodegenerative diseases. *Biomed Research International* vol. 2013 18 (2013).
19. Fontaine, V., Mohand-Said, S., Hanoteau, N. et al. Neurodegenerative and neuroprotective effects of tumor Necrosis factor (TNF) in retinal ischemia: opposite roles of TNF receptor 1 and TNF receptor 2. *The Journal of Neuroscience* vol. 22 7 (2002).
20. Wu, M., Huang, C., Chio, C. et al. Inhibition of Peripheral TNF- α and Downregulation of Microglial Activation by Alpha-Lipoic Acid and Etanercept Protect Rat Brain Against Ischemic Stroke. *Molecular Neurobiology* vol. 53, 4961–4971 (2016).
21. Sweeney, M., Sagare, A., Zlokovic, B. Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Nature Reviews Neurology* vol. 14 133–150 (2018).
22. Elfawy, H., Das, B. Crosstalk between mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and age related neurodegenerative disease: Etiologies and therapeutic strategies. *Life Sciences* vol. 218 165–184 (2019).
23. Qiu, C., Kivipelto, M., Von Strauss, E. Epidemiology of Alzheimer's disease: Occurrence, determinants, and strategies toward intervention. *Dialogues in Clinical Neuroscience* vol. 11 111–128 (2009).
24. De La Monte, S., Wands, J. Alzheimer's disease is type 3 diabetes-evidence reviewed. *Journal of Diabetes Science and Technology* vol. 2 1101–1113 (2008).
25. Tumminia, A., Vinciguerra, F., Parisi, M. et al. Type 2 diabetes mellitus and alzheimer's disease: Role of insulin signalling and therapeutic implications. *International Journal of Molecular Sciences* vol. 19 3306 (2018).
26. Drews, G., Krippeit-Drews, P., Düfer, M. Oxidative stress and beta-cell dysfunction. *European Journal of Physiology* vol. 460 703-718 (2010).
27. Zhang, P., Li, T., Wu, X. et al. Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies. *Frontiers in Medicine* vol. 78 18 (2020).
28. Cai, D., Yuan, M., Frantz, D. et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK- β and NF- κ B. *Nature Medicine* vol. 11 183–190 (2005).
29. Gier, B., Krippeit-Drews, P., Sheiko, T. et al. Suppression of KATP channel activity protects murine pancreatic β cells against oxidative stress. *The Journal of Clinical Investigation* vol. 119 3246–3256 (2009).
30. Suryavanshi, S., Kulkarni, Y. NF- κ B: A potential target in the management of vascular complications of diabetes. *Frontiers in Pharmacology* vol. 8 12 (2017).
31. Khajehdehi, P., Pakfetrat, M., Javidna, K. et al. Oral supplementation of turmeric attenuates proteinuria, transforming growth factor- β and interleukin-8 levels in patients with overt type 2 diabetic nephropathy: A randomized, double-blind and placebo-controlled study. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology* vol. 45 365–370 (2011).
32. Feng, W., Gao, C., Bi, Y. et al. Randomized trial comparing the effects of gliclazide, liraglutide, and metformin on diabetes with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Diabetes* vol. 9 800–809 (2017).
33. Qadir, M., Klein, D., Álvarez-Cubela, S. et al. The role of microRNAs in diabetes-related oxidative stress. *International Journal of Molecular Sciences* vol. 20 25 (2019).
34. La Sala, L., Meakic-Sposta, S., Tagliabue, E. et al. Circulating microRNA-21 is an early predictor of ROS-mediated damage in subjects with high risk of developing diabetes and in drug-naïve T2D. *Cardiovascular Diabetology* vol. 18 12 (2019).
35. Jeyabal, P., Thandavarayan, R., Joladarashi, D. et al. MicroRNA-9 inhibits hyperglycemia-induced pyroptosis in human ventricular cardiomyocytes by targeting ELAVL1. *Biochemical and Biophysical Research Communications* vol. 471, 423–429 (2016).
36. Oddo, S., Caccamo, A., Shepherd, J. et al. Triple-transgenic model of Alzheimer's Disease with plaques and tangles: Intracellular A β and synaptic dysfunction. *Neuron* vol 39 409–421 (2003).
37. Montgomery, S., Narrow, W., Mastrangelo, M. et al. Chronic neuron- and age-selective down-regulation of TNF receptor expression in triple-transgenic alzheimer disease mice leads to

- significant modulation of amyloid- and Tau-related pathologies. *The American Journal of Pathology* vol 182 2285–2297 (2013).
38. Cai, Z., Zhao, B., Ratka, A. Oxidative stress and β -amyloid protein in Alzheimer's disease. *NeuroMolecular Medicine* vol. 13 223–250 (2011).
39. Tamagno, E., Parola, M., Bardini, P. et al. β -site APP cleaving enzyme up-regulation induced by 4-hydroxynonenal is mediated by stress-activated protein kinases pathways. *Journal of Neurochemistry* vol. 92 628–636 (2005).
40. Krishnan, K., Reeve, A., Turnbull, D. Do mitochondrial DNA mutations have a role in neurodegenerative disease? *Biochemical Society Transactions* vol. 35 1232–1235 (2007).
41. Cottrell, D., Blakely, E., Johnson, M. et al. Cytochrome C oxidase deficient cells accumulate in the hippocampus and choroid plexus with age. *Neurobiology of Aging* vol. 22 265–272 (2001).
42. Coskun, P., Beal, M., Wallace, D. Alzheimer's brains harbor somatic mtDNA control-region mutations that suppress mitochondrial transcription and replication. *Proceeding of the National Academy of Sciences* vol. 101 10726–10731 (2004).
43. Bi, R., Zhang, W., Zhang, D. et al. Genetic association of the cytochrome c oxidase-related genes with Alzheimer's disease in Han Chinese. *Neuropsychopharmacology* vol. 43 2264–2276 (2018).
44. Terry, R. Cell Death or Synaptic Loss in Alzheimer Disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* vol. 59 1118–1119 (2000).
45. Kleinridders, A., Ferris, H., Cai, W. et al. Insulin action in brain regulates systemic metabolism and brain function. *Diabetes* vol. 63 2232–2243 (2014).
46. Steen, E., Terry, B., Rivera, E. et al. Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease - Is this type 3 diabetes? *Journal of Alzheimer's Disease* vol. 7 63–80 (2005).
47. Yin, F., Sancheti, H., Patil, I. et al. Energy metabolism and inflammation in brain aging and Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine* vol. 100 108–122 (2016).
48. Szablewski, L. Glucose Transporters in Brain: In Health and in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease* vol. 55 1307–1320 (2017).
49. M. de la Monte, S. Brain Insulin Resistance and Deficiency as Therapeutic Targets in Alzheimers Disease. *Current Alzheimer Research* vol 9 35–66 (2012).
50. Gasparini, L., Gouras, G., Wang, R. et al. Stimulation of β -amyloid precursor protein trafficking by insulin reduces intraneuronal β -amyloid and requires mitogen-activated protein kinase signaling. *The Journal of Neuroscience* vol 21 2561–2570 (2001).
51. Blass, J., Gibson, G., Hoyer, S. The role of the metabolic lesion in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease* vol. 4 225–232 (2002).
52. Zhou, Y., Du, Y., Du, H. et al. Insulin resistance in Alzheimer's disease (AD) mouse intestinal macrophages is mediated by activation of JNK. *European Review for Medicine and Pharmacologica Sciences* vol 21 1787–1794 (2017).
53. Lovell, M., Xiong, S., Xie, C. et al. Induction of hyperphosphorylated tau in primary rat cortical neuron cultures mediated by oxidative stress and glycogen synthase kinase-3. *Journal of Alzheimer's Disease* vol. 6 659–671 (2005).
54. Grieco, G., Brusio, N., Licata, G. et al. Targeting microRNAs as a therapeutic strategy to reduce oxidative stress in diabetes. *International Journal of Molecular Sciences* vol. 20 23 (2019).