

# Prueba piloto para implementación y evaluación de tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en modelo animal transgénico.

Tania Pardo<sup>1</sup>, Ana Laura Reyes<sup>1</sup>, Andrea Paolino<sup>1</sup>, Juan Andrés Abin<sup>2</sup>, Eduardo Savio<sup>1</sup>, Henry Engler<sup>1</sup>

1-Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM), Montevideo, Uruguay; 2- Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Departamento de Neuroquímica, Montevideo, Uruguay

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un desorden neurodegenerativo del sistema nervioso central (SNC) que se caracteriza por el deterioro progresivo de las funciones mentales. En la EA el individuo experimenta pérdida de memoria, desorientación temporal y espacial, deterioro intelectual y personal. Esta enfermedad representa una de las más importantes epidemias del siglo XXI, se calcula que en 2015 los costos rondaron los 818 miles de millones de dólares americanos. A la fecha no existen terapias efectivas para la cura de esta enfermedad, por lo que existe una clara urgencia por el desarrollo de estrategias terapéuticas efectivas en la prevención y tratamiento de la EA [1-4].

La imagenología molecular por Tomografía por Emisión de Positrones (PET) es una técnica no invasiva que posee la capacidad de obtener información cuantitativa in vivo de diversos procesos biológicos y/o patológicos. El compuesto denominado PIB (Pittsburgh compound B) marcado con <sup>11</sup>C (<sup>11</sup>C[PIB]), se une a depósitos fibrilares del péptido β-amiloide de las placas de amiloide, presentes en la EA.

El Azure B (principal metabolito de N-desmetilación del azul de metileno) ha demostrado poseer gran variedad de acciones biológicas, entre ellas inhibidor competitivo reversible de la acetilcolinesterasa y butilcolinesterasa. Se cree que el mismo podría contribuir al perfil farmacológico del azul de metileno, el cual se encuentra en estudios clínicos de fase III como tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

En el presente trabajo se realizó una prueba piloto de evaluación del potencial terapéutico del Azure B por vía oral en animales de experimentación.

## MATERIALES & MÉTODOS

El tratamiento consistió en la administración de una dosis diaria de Azure B (9,3 mg/kg/día), durante 3 meses en el agua del bebedero en un modelo animal transgénico de la EA de 10 meses de edad.

El análisis de la estabilidad de la formulación empleada fue llevado a cabo mediante HPLC, las condiciones empleadas fueron fase estacionaria: Macherey-Nagel C-18 (4.6 x 250 mm); 5 μm, fase móvil: A: H<sub>2</sub>O/HCl pH= 2,47 B: Acetonitrilo, gradiente: 0-1,3 min 70%B, 1,3-2,3 min 60%B, 2,3-10min 50%B, detección UV: λ =664nm, flujo:1mL/min.

El seguimiento del tratamiento se realizó por tomografía de emisión de positrones μPET, utilizando el radiofármaco <sup>11</sup>C[PIB] y adquiriendo las imágenes en una micro-cámara trimodal PET/SPECT/CT (Triumph™, Gamma Medica, Inc.). Se efectuaron estudios imagenológicos antes de comenzar el tratamiento y a los 15 meses de edad. Posterior al sacrificio se lleva a cabo ensayos de inmunohistoquímica. (Figura 1)

Los animales de experimentación utilizados fueron ratones de la cepa B6;129-Psen<sup>1tm1MpmTg</sup>(APP<sup>Swe</sup>, tau<sup>P301L</sup>)1Lfa/Mmjax, los cuales desarrollan progresivamente: placas de amiloide, ovillos neurofibrilares de proteína tau, así como astrocitosis y deterioro cognitivo [5].

## RESULTADOS

Con el fin de evaluar la estabilidad de la formulación oral a emplear en el estudio, se sometió a la misma a diferentes condiciones de temperatura y exposición a la luz durante un periodo de 6 días. Se verificó que la fotosensibilidad de la solución de Azure B, por lo que se resolvió proteger la formulación de la luz natural. (Figura 2).

Los estudios imagenológicos efectuados a los animales de experimentación tratados y control previos al comienzo del tratamiento, no mostraron diferencias significativas en las distintas regiones analizadas. Sin embargo, en los estudios post tratamiento se pudo observar una diferencia significativa en la captación de <sup>11</sup>C[PIB] entre los distintos grupos de animales (Figura 3 y 4).

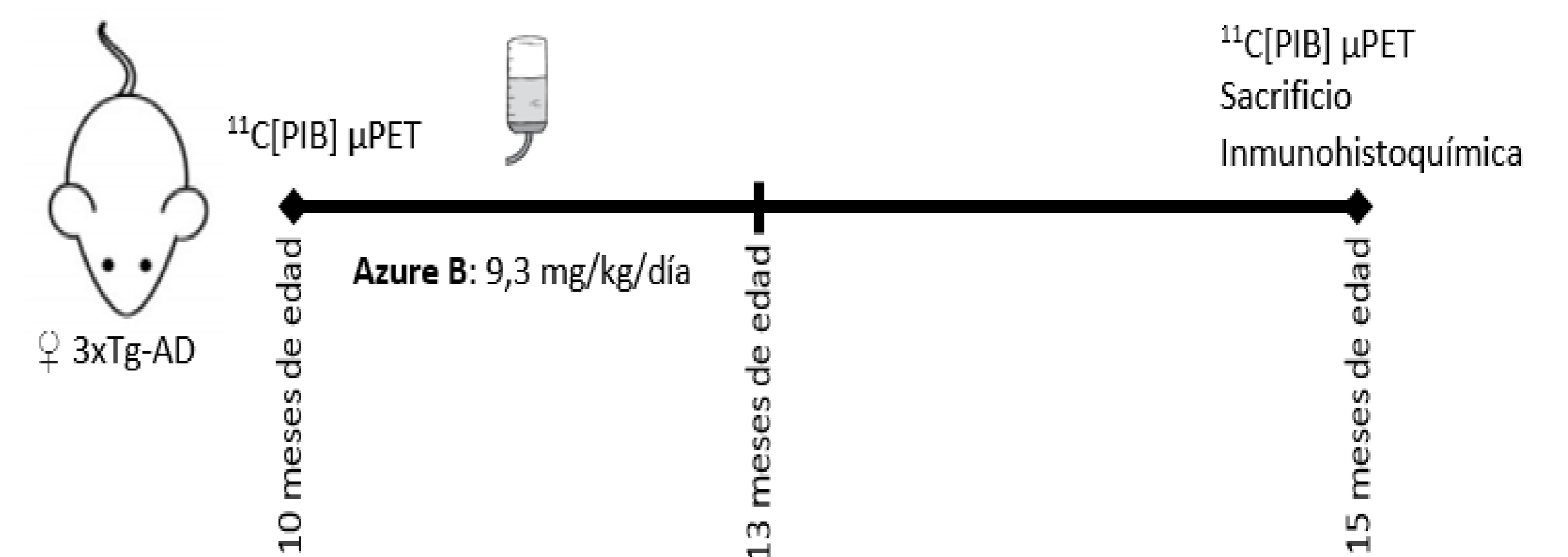


Fig 1. Esquema diseño experimental.

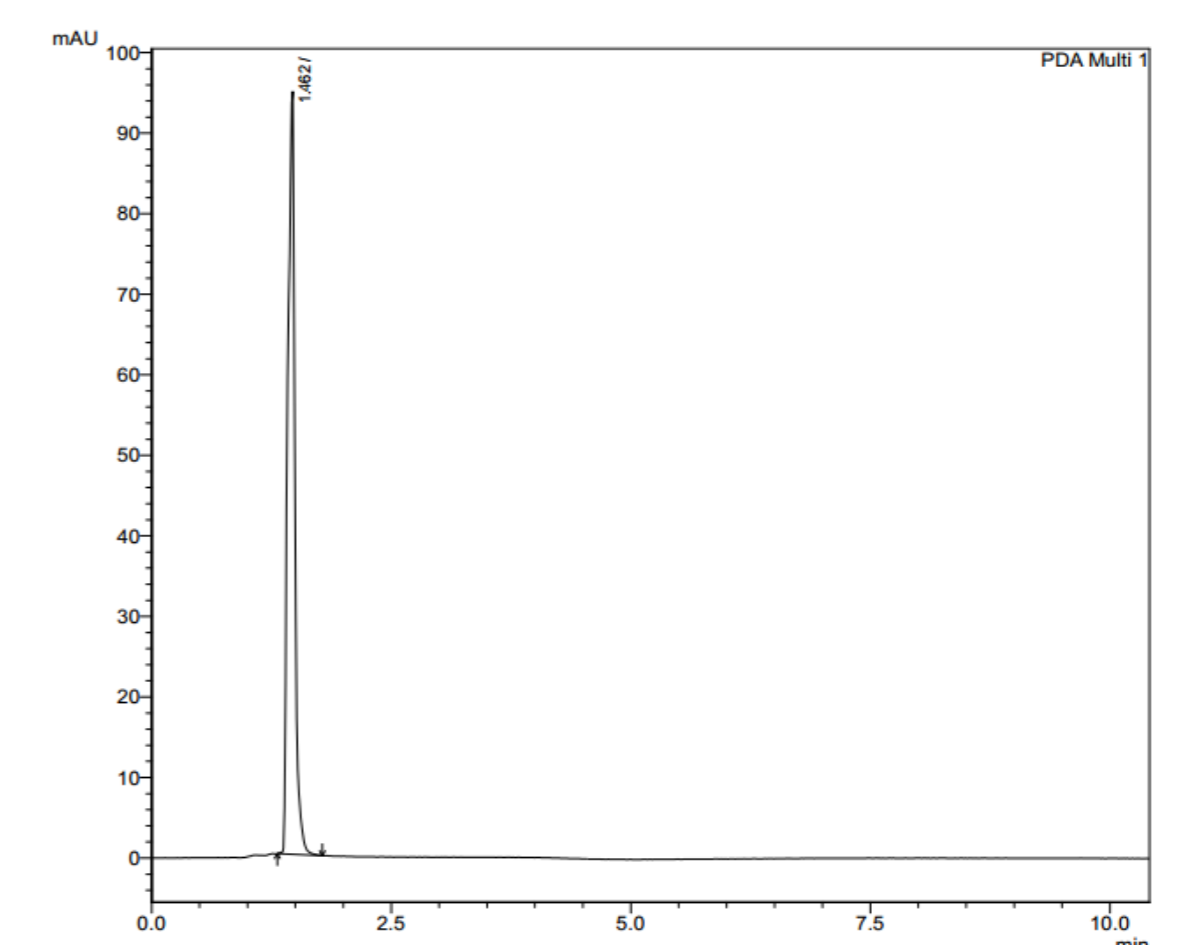


Fig 2. Estabilidad formulación oral Azure B, 6 días.

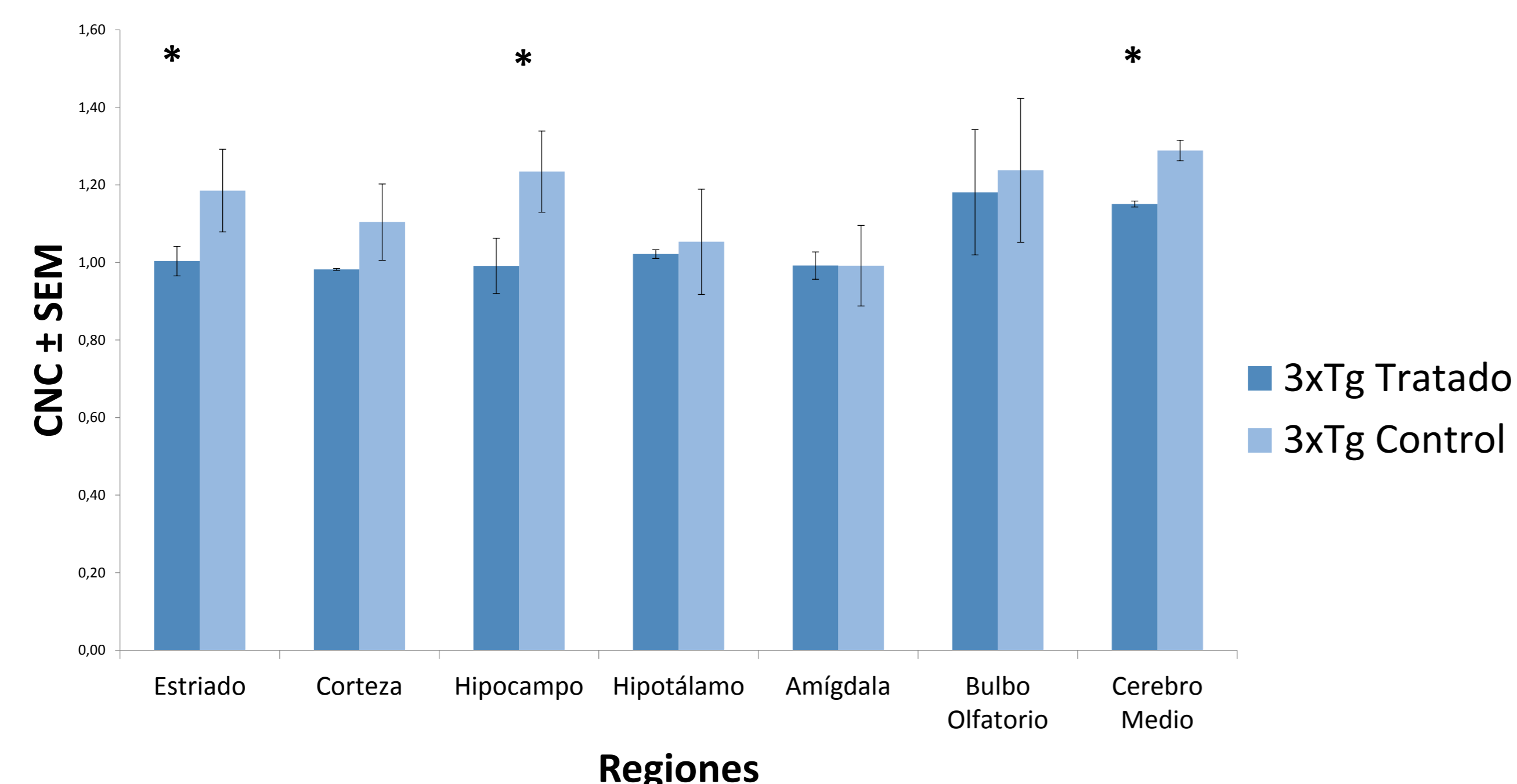


Fig 3. Coeficiente de normalización contra cerebro (CNC). Las regiones marcadas(\*) presentan diferencias significativas en la captación de <sup>11</sup>C[PIB] a los 15 meses de edad.

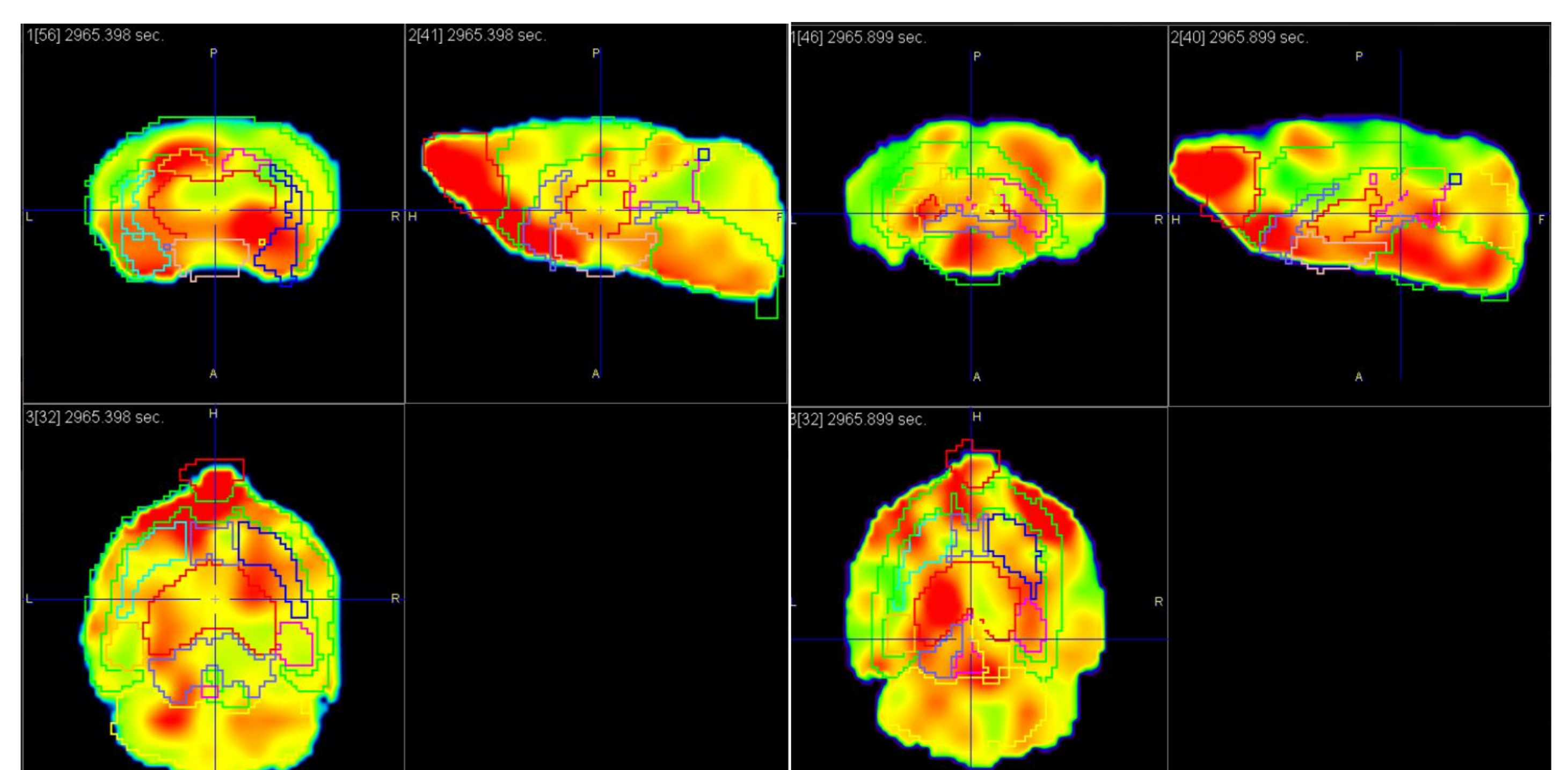


Fig 4. Estudios PET/CT utilizando el radiofármaco <sup>11</sup>C[PIB]. A- Estudio pretratamiento. B- Estudio post tratamiento.

## CONCLUSIONES

Se verificó la estabilidad de la formulación oral a emplear en el estudio, permitiendo la dosificación diaria del compuesto de interés. Este trabajo permitió la puesta a punto de técnicas experimentales para la determinación de la eficacia del tratamiento aplicado, con el fin de utilizar estas herramientas en la evaluación de otros potenciales tratamientos.

Agradecimientos: PEDECIBA-Química.