

La epóxido hidrolasa soluble: una nueva diana terapéutica para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer

Pallàs, M.; Griñán-Ferré, C.

Sección de Farmacología. Departamento de Farmacología, Toxicología y Química Terapéutica, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación. Instituto de Neurociencias, Universidad de Barcelona, Av. Joan XXIII, 27-31, 08028 Barcelona, España.

Presentación

El envejecimiento de la población implica un aumento de las enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer. Durante décadas se ha avanzado poco en su tratamiento. Actualmente los fármacos comercializados son eficaces para tratar los síntomas, pero no modifican su desarrollo o progresión. Por tanto, el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer es una clara necesidad no cubierta que precisa de nuevas estrategias farmacológicas que permitan frenar el avance de una enfermedad con graves consecuencias en los pacientes, los familiares y en el sistema sanitario. La inhibición de los procesos neuroinflamatorios, como los mediados por la enzima epóxido hidrolasa soluble, podría ser un punto de inflexión en la terapéutica de la enfermedad.

Resumen

La enfermedad de Alzheimer es una patología multifactorial, progresiva e irreversible que causa deterioro cognitivo y pérdida de memoria. Las principales características histopatológicas que van ligadas al deterioro cognitivo son la acumulación de β -amiloide y la hiperfosforilación de tau. Otros cambios moleculares que causan la neurodegeneración, incluyen la neuroinflamación y el estrés oxidativo que conllevan la muerte neuronal.

Los fármacos disponibles actualmente únicamente tienen una acción paliativa sobre la sintomatología y no modifican la progresión de la enfermedad. Por tanto, descubrir y validar nuevas dianas farmacológicas que puedan dar lugar a nuevas aproximaciones terapéuticas es de vital importancia. En este sentido, sabemos la neuroinflamación y la activación microglial preceden al daño neuronal en la enfermedad de Alzheimer

Recientemente, la epóxido hidrolasa soluble (sEH) ha sido validada como una nueva diana terapéutica que estaría implicada en la reducción de la inflamación. La inhibición farmacológica de la sEH potencia la acción antiinflamatoria mediada por los ácidos epoxieicosatrienoicos (EETs). Se ha demostrado la participación de los EETs en la función cerebral, en particular su acción neuroprotectora y de mejora del flujo sanguíneo. Resultados de diferentes estudios en modelos animales muestran la solidez y la idoneidad de la inhibición de sEH como una nueva estrategia para luchar contra la enfermedad de Alzheimer.

Palabras clave

XXXXXXX

Conflicto de intereses

XXXXXXX

Summary

Alzheimer's disease is a multifactorial, progressive, and irreversible illness that causes cognitive impairment and memory loss. The main histopathological hallmarks underlying this cognitive impairment are the accumulation of β -amyloid and hyperphosphorylation of Tau. Likewise, other molecular events that cause neurodegeneration are involved, such as neuroinflammation and oxidative stress ending with neuronal death.

Nowadays, current pharmacology only produces palliative effects and does not stop disease progression, so discover and validate new pharmacological targets that can offer new therapies is of vital importance. In this sense, inflammation processes have been established as causal factor of Alzheimer's disease. Specifically, some studies show how neuroinflammation and microglial activation precede neuronal damage.

Recently, soluble epoxide hydrolase (sEH) has been validated as a new therapeutic target based on the reduction of inflammation. Pharmacological inhibition of sEH potentiates the anti-inflammatory action mediated by epoxyeicosatrienoic acids (EETs), epoxy fatty acids derived from araquidonic acid after cytochrome p450 oxidative activity. Several reports demonstrated the participation of EETs in the correctness of brain, including neuroprotective action or improvement in blood flux. A robust string of evidence has been reported and data from different studies in animal models indicated the suitability of sEH inhibition as a new avenue to fight against Alzheimer's disease.

Key words

XXXXXXX

Conflict of interests

XXXXXXX

Demencia y enfermedad de Alzheimer

La demencia es una patología grave caracterizada por un deterioro cognitivo progresivo que afecta la capacidad de realizar normalmente las actividades habituales de la vida diaria (Cunningham et al., 2015). La incidencia de la demencia aumenta con la edad, lo que la convierte en una de las principales causas de discapacidad y dependencia entre las personas mayores en todo el mundo). Según *The World Alzheimer Report* (Martin Prince et al., 2015), en 2015, había 46,8 millones de personas en el mundo que padecían demencia, cifra que aumenta año tras año en paralelo con el envejecimiento de la población. De hecho, en la revisión realizada por los mismos autores en 2017, incrementaba a casi 50 millones de personas con demencia y preveían que el número de pacientes alcance los 152 millones en 2050.

La enfermedad de Alzheimer es la causa más común de demencia en los ancianos (Goedert y Spillantini, 2006). Concretamente, la Sociedad Española de Neurología afirma que el 15% de la población mayor de 65 años padece un deterioro cognitivo leve y que el 50% de estos pacientes desarrollará enfermedad de Alzheimer. Además, indica que el 34% de la población mayor de 85 años está diagnosticada de enfermedad de Alzheimer y que cada año se diagnostican 40.000 nuevos casos en España (Molinuevo y Peña-Casanova, 2009).

La enfermedad de Alzheimer es un trastorno neurodegenerativo multifactorial caracterizado por la pérdida progresiva de neuronas que se traduce en una

disminución de la capacidad de aprendizaje, pérdida de memoria y deterioro de otras funciones cognitivas (Goedert y Spillantini, 2006). Las características patológicas más importantes de la enfermedad de Alzheimer son la producción excesiva de placas seniles extracelulares de amiloide beta ($A\beta$) y la formación de ovillos neurofibrilares intracelulares de la proteína tau hiperfosforilada. A nivel de señalización neuronal, la disminución de la neurotransmisión colinérgica y el aumento de la liberación de glutamato son los principales cambios que se han descrito en el desarrollo de la enfermedad (De Paula et al., 2012).

La acumulación de placas seniles está relacionada con la sobreproducción y acumulación de péptido $A\beta$ en los tejidos cerebrales. El péptido $A\beta$ se deriva de la proteólisis de una proteína transmembrana conocida como proteína precursora amiloide (APP). La APP se sintetiza en el retículo endoplásmico y luego se transporta a la red trans-Golgi hasta la membrana celular (Zang et al., 2011). La APP se metaboliza en dos vías exclusivas: la vía no amiloidogénica y la vía amiloidogénica (figura 1A). En la vía no amiloidogénica, la APP se transporta inicialmente a la superficie celular y es escindida por la α -secretasa, liberando un fragmento N-terminal soluble (sAPP α) y un fragmento C-terminal (C38). Esta escisión ocurre en el fragmento extracelular del dominio amiloide y, por lo tanto, excluye la formación de péptido $A\beta$. Posteriormente, el fragmento C38 es escindido por la γ -secretasa y genera un fragmento C-terminal más pequeño, P3. Por tanto, esta vía forma pequeños fragmentos que no son tóxicos para las neuronas ni forman agregados. De hecho, son muy importantes en la super-

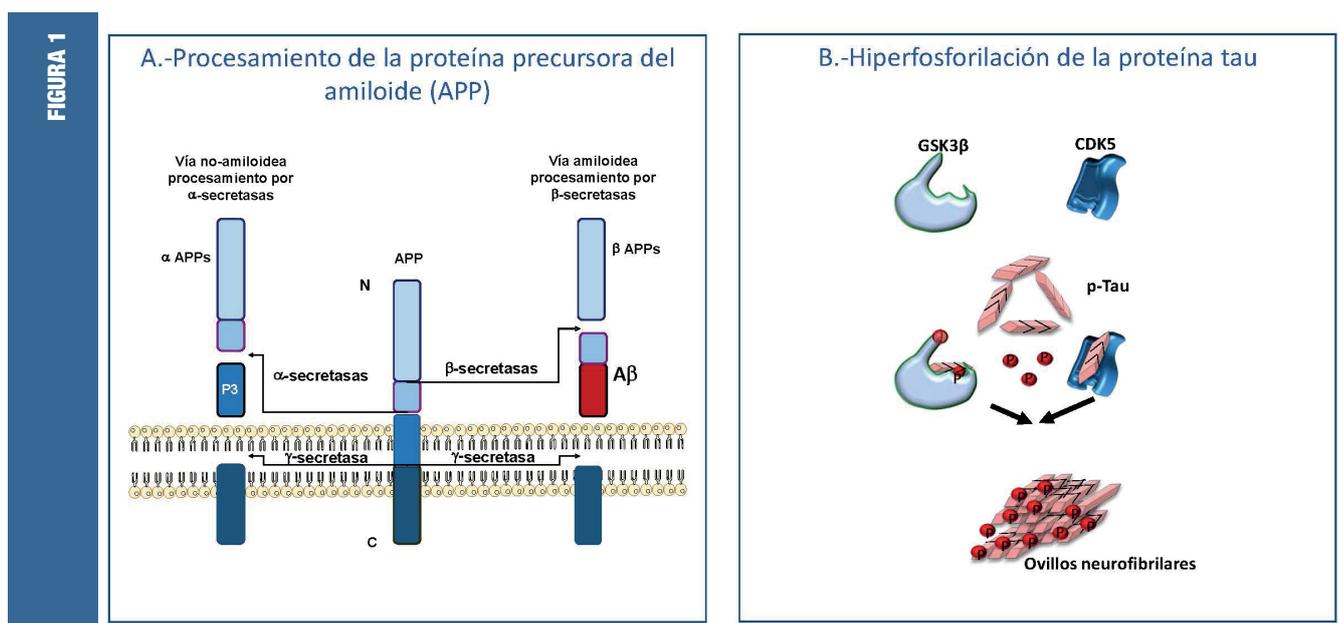


Figura 1. Gráficos del procesamiento de la proteína precursora del amiloide (A) y de la hiperfosforilación de tau (B). Ver texto para detalles.

vivencia neuronal, la plasticidad neuronal y protegen contra la excitotoxicidad (Zang et al., 2011). Alternativamente, en la vía amiloidogénica, la APP es escindida secuencialmente por β -secretasa, que libera un fragmento N-terminal más pequeño (sAPP β) y un fragmento C-terminal más largo (C9), y que sufre la acción proteolítica de la γ -secretasa. Este segmento C terminal, da lugar a los péptidos A β , concretamente a dos péptidos de 40 o 42 aminoácidos (A β_{40} y A β_{42}), originando monómeros A β neurotóxicos, que se polimerizan en oligómeros y se agregan en placas amiloides seniles. A pesar de su similitud, A β_{42} es el péptido A β más neurotóxico porque es más susceptible a la agregación y oligomeración que el A β_{40} (Walsh y Selkoe, 2004). En condiciones fisiológicas, la APP se metaboliza principalmente por la vía no amiloidogénica y existe un equilibrio entre la producción de péptido A β y la eliminación del cerebro. Sin embargo, los factores de riesgo genéticos, los relacionados con la edad y ambientales, mencionados anteriormente, pueden contribuir a un cambio metabólico en esta homeostasis, impulsando la vía amiloidogénica y disminuyendo el aclaramiento de A β , facilitando su acumulación en los tejidos neurales (De Paula et al., 2012). Por ejemplo, las mutaciones de los genes Presenilina 1 y Presenilina 2 conducen a la agregación de A β al interferir con el procesamiento de la γ -secretasa (Zang et al., 2011).

Por otro lado, la formación de ovillos neurofibrilares se asocia a cambios del citoesqueleto debidos a la hiperfosforilación de la proteína tau en neuronas (Walsh y Selkoe, 2004). La tau es una proteína asociada a microtubos y un componente esencial del citoesqueleto; su función principal es estabilizar los microtubos axonales en las neuronas. Los microtubos son importantes, no solo para el mantenimiento del citoesqueleto sino que son esenciales para el transporte intracelular de orgánulos y vesículas que contienen proteínas y neurotransmisores (Medeiros et al., 2011). En condiciones fisiológicas la proteína tau ejerce su función interactuando con la tubulina y promueve su estabilización y ensamblaje en microtúbulos. La actividad biológica de la tau está regulada por el grado de su fosforilación, que se necesita para estabilizar los polímeros de tubulina. Por lo tanto, los cambios en su estado de fosforilación permiten remodelar el citoesqueleto, lo que significa que el mecanismo regulador de la fosforilación de la tau es fundamental para promover la plasticidad sináptica (Lindwall y Cole, 1984). Sin embargo, en la enfermedad de enfermedad de Alzheimer, según algunas teorías debido a la agregación extracelular del péptido A β , o bien por un entorno inflamatorio y oxidativo, se produce una hiperfosforilación de la proteína tau que afecta su capacidad para unirse a la tubulina y promover el ensamblaje de microtúbulos (Bhadbha-

de Baglietto-Vargas y Laferla, 2011). Hay diferentes cinasas que pueden fosforilar la proteína tau, pero en la enfermedad de Alzheimer se consideran claves la cinasa dependiente de la ciclina 5 (CDK5, de su acrónimo en inglés, *cyclin dependent kinase*) y la glucógeno sintasa 3 β (GSK 3 β , de su acrónimo en inglés *Glycogen synthase kinase 3 β*) (figura 1B). Cuando la proteína tau se hiperfosforila, se produce la desestabilización de los microtúbulos y la formación de acumulaciones de éstos formando los denominados ovillos neurofibrilares en el interior de la neurona. Además, la fosforilación anormal altera el transporte axonal y el metabolismo sináptico, desestabilizando los microtúbulos y colapsando así el citoesqueleto (Medeiros et al. En conjunto, los cambios extracelulares e intracelulares descritos derivan en el déficit sináptico progresivo, la exacerbación de la respuesta neuroinflamatoria y oxidativa, que finalmente conduce a la muerte neuronal (Pimplikar, 2014).

Como se ha mencionado anteriormente, en la enfermedad de Alzheimer se observan alteraciones de la neurotransmisión colinérgica y glutamatérgica (De Strooper y Karran 2016). El sistema colinérgico participa en varios procesos fisiológicos, como la atención, el aprendizaje, la memoria, la respuesta al estrés y la información sensorial (Ferreira-Vieira et al., 2016). En la enfermedad de Alzheimer, la disminución de la neurotransmisión colinérgica se debe a una reducción del número de neuronas colinérgicas por la acción neurotóxica del A β y de la desestructuración del citoesqueleto por la hiperfosforilación de la tau. Esta interrupción puede afectar la atención, la codificación de la información y la memoria, provocando los síntomas característicos de la enfermedad de Alzheimer (Rogers y Kesner, 2004). Por otra parte, el glutamato es el neurotransmisor excitador más importante del cerebro ejerciendo su acción por activación de los receptores ionotrópicos y metabotrópicos a glutamato. En condiciones fisiológicas, el receptor ionotrópico N-metil-D-aspartato (NMDA) juega un papel importante en la transmisión sináptica y la plasticidad, siendo el responsable de los procesos de aprendizaje y memoria (Liu et al., 2019). Sin embargo, en la enfermedad de Alzheimer, los oligómeros A β reducen la captación y aumentan la liberación de glutamato, provocando una elevación de los niveles de este neurotransmisor en la hendidura sináptica que resulta en una sobreestimulación de sus receptores. Esta estimulación crónica del receptor NMDA genera excitotoxicidad mediada por una entrada excesiva de Ca²⁺, y como consecuencia la muerte por excitotoxicidad de las neuronas que es la causa principal del deterioro cognitivo característico de los pacientes con enfermedad de Alzheimer (Wang et al., 2017).

Actualmente, los tratamientos farmacológicos aprobados para tratar el deterioro cognitivo leve o la enfermedad de Alzheimer se pueden clasificar en dos familias. Una de ellas son los inhibidores de la colinesterasa, como donepezilo, rivastigmina y galantamina, que inhiben la enzima acetilcolinesterasa, aumentando los niveles de acetilcolina y mejorando la neurotransmisión colinérgica (Colovic et al., 2013). El otro grupo de fármacos son los antagonistas del receptor NMDA, como la memantina, que bloquea el receptor NMDA de manera no competitiva, permitiendo el funcionamiento del receptor de forma más fisiológica y evitando la excitotoxicidad (Briggs et al., 2016). Sin embargo, estos fármacos solo ralentizan y atenúan la progresión de los síntomas de la enfermedad de Alzheimer durante un período de tiempo corto, por lo que solo proporcionan un efecto terapéutico limitado. Por ello, es importante encontrar alternativas farmacológicas para frenar la neurodegeneración, prevenir la enfermedad, reducir la tasa de incidencia, su gravedad y restaurar o disminuir el deterioro cognitivo asociada a su progresión.

Durante los últimos 20 años, los diferentes fármacos nominados como candidatos para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer han sufrido una notable tasa de fracaso (99,8%) durante el proceso de desarrollo, sobre todo en lo que respecta a eficacia clínica (Cummings et al, 2020). Si bien es cierto, que la mayoría de los candidatos evaluados en ensayos clínicos tenían como dianas preferentes aquellas relacionadas con la producción de placas de amiloide o con la formación de ovillos neurofibrilares. El último fracaso ha sido el Aducanumab (BIIB037), anticuerpo monoclonal humanizado contra el A β que no ha conseguido la aprobación de la *Food and Drug Administration* (FDA) por falta de eficacia en la pérdida de memoria, aunque mejoraba otros indicadores secundarios.

Estos enfoques tan específicos han demostrado no ser los más adecuados, dado el desconocimiento de la/s causa/s iniciales de la enfermedad de Alzheimer. Los criterios de selección de la diana para afrontar el tratamiento de una determinada enfermedad deben considerar el análisis de la etiopatogenia de la enfermedad, que en este caso es múltiple. En este sentido, algunos expertos argumentan que probablemente la futura terapia para enfermedad de Alzheimer puede que no encaje unívocamente en la vía amiloide, tau o amiloide-tau sino que se debería buscar una estrategia más holística (Bennett et al., 2014).

Sabemos que en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer participan factores genéticos y ambientales, se caracteriza por la aparición de placas amiloides y de los ovillos neurofibrilares, pero también son comunes las alteraciones neurovasculares y neu-

roinflamatorias que van apareciendo en función del tiempo. Por tanto, centrarse en las alteraciones que están ligadas a la neurodegeneración, como la neuroinflamación, puede ser una alternativa viable para el desarrollo de nuevas terapias. Sin embargo, solo el 16% de la inversión en ensayos clínicos en curso para la EA está relacionada con la inflamación (Cummings et al., 2020). Entre éstos, se pueden encontrar ensayos clínicos con fármacos dirigidos a diferentes vías de la inflamación como los antiinflamatorios no esteroideos (AINES), con otros compuestos que inhiben la activación del inflammasoma, con inhibidores del mediador TNF- α (Etanercept) o con resveratrol (polifenol con actividad antioxidante) (Cummings et al., 2020).

La neuroinflamación en la enfermedad de Alzheimer

La neuroinflamación es una respuesta celular y bioquímica compleja del sistema nervioso a una lesión o infección, entre otras señales dañinas para el cerebro. Algunas de ellas se postulan como causa subyacente del deterioro cognitivo leve o de diversas enfermedades neurodegenerativas, como la EA (Heneka et al., 2015).

La neuroinflamación se caracteriza por la activación de las células gliales del sistema nervioso central. La glía está formada por la astrogliya y la microglía, que constituyen las células inmunes residentes del parénquima cerebral. La función principal de la microglía es proteger las neuronas de los patógenos y eliminar los restos celulares y los patógenos mediante la realización del proceso de fagocitosis (Thawkar et al., 2019). Cuando se produce un daño o un cambio en la homeostasis cerebral se activan las células gliales lo que conduce a la liberación de mediadores inflamatorios, como citocinas y quimiocinas, proteína C reactiva, entre otras, además de la generación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. Las citocinas y quimiocinas liberadas proporcionan señales a las células periféricas en la entrada del sistema nervioso central, contribuyendo así a la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, comprometiendo la función vascular, incrementado el estrés oxidativo y, en última instancia, provocando daño cerebral. Esta cascada de acontecimientos son los que se constituyen el ciclo de sobreactivación de la neuroinflamación, que provocará más daño celular en el cerebro y la pérdida de funciones neuronales.

En la enfermedad de Alzheimer, parece ser que la formación de placas de A β inicia un proceso inflamatorio mantenido por la microglía. La activación tiene efectos duales sobre la progresión de la enferme-

dad de Alzheimer porque inicialmente provoca una disminución en la acumulación de A β al aumentar su fagocitosis, aclaramiento y degradación (Wang et al., 2015). Sin embargo, la activación crónica origina la liberación de citocinas proinflamatorias como la interleucina-1 β , la interleucina-18 o la quimiocina CXCL12. La activación de citocinas inflamatorias induce además otras reacciones inflamatorias como la liberación de especies reactivas de oxígeno, sustancias citotóxicas y aminoácidos excitadores (Heneka et al., 2015). Además, las citocinas, pueden modificar la actividad de diferentes cinasas como la GSK 3 β , una de las cinasas responsable de la fosforilación de Tau.

Por tanto, la presencia de A β puede inducir una mayor activación de la microglía, que producirá una mayor liberación de citocinas, que al producir neuroinflamación puede fomentar la acumulación de A β y la hiperfosforilación de la proteína Tau, estableciéndose un ciclo pernicioso y dañino para el funcionamiento neuronal. Además, la inflamación persistente produce una disfunción de la barrera hematoencefálica. Finalmente, este espectro de procesos inflamatorios contribuye a la pérdida neuronal, la neurodegeneración y el deterioro cognitivo (Wang et al., 2015).

Lípidos bioactivos e inflamación

El papel de los lípidos bioactivos está bien establecido en la fisiopatología de la inflamación (Schauberger et al., 2016). Un rasgo característico de los procesos inflamatorios agudos es un aumento generalizado de los niveles de los eicosanoides proinflamatorios clásicos (prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos). Las acciones proinflamatorias de las prostaglandinas formadas por la ciclooxigenasa a partir del ácido araquidónico, son bien conocidas (Spector y Kim, 2015) y la inhibición de la ciclooxigenasa (COX) es el mecanismo de acción de los AINE, como el naproxeno y celecoxib. Sin embargo, hay otros metabolitos formados a partir de sustratos de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga como el ácido araquidónico que presentan acciones antiinflamatorias y por tanto equilibran de manera fisiológica la acción de las prostaglandinas. Concretamente, las prostaglandinas y el tromboxano son producidos por las COX, los leucotrienos, lipoxinas y ácidos hidroxieicosatetraenoicos (HETE) por la lipoxigenasa, el 20-HETE por citocromo (CYP) hidroxilasas y finalmente los epoxiácidos (EpFA de su acrónimo en inglés, *epoxyfatty acids*), como los ácidos epoxieicosatrienoicos (EETs de su acrónimo en inglés *epoxyeicosatrienoic acids*), por CYP450, incluidas las epoxigenasas (Figura 2). Concretamente, las epoxigenasas CYP450

FIGURA 2

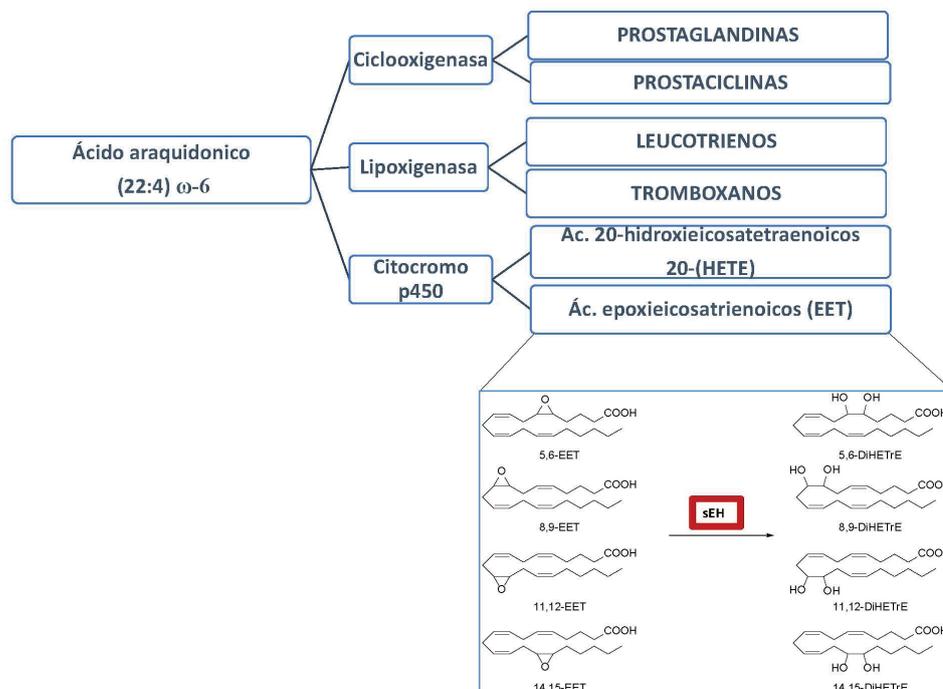


Figura 2. Esquema del metabolismo del ácido araquidónico. Detalle de la la generación de los ácidos epoxieicosatrienoicos y la participación de la epóxido hidrolasa soluble (sEH) en su degradación a los correspondientes dioles.

producen cuatro regioisómeros de EETs, 5,6-, 8,9-, 11,12- y 14,15-EETs, todos ellos tienen una bioactividad similar, aunque de potencia variable (Morisseau et al., 2010). Los EpFA, y en particular EETs, son activos en la inflamación, la hipertensión y el dolor inflamatorio y neuropático (Schmelzer et al., 2005; Imig JD. 2005; Wagner et al., 2013; Inceoglu et al., 2015). Además, los EETs también tienen propiedades antioxidantes, son efectivos en la disfunción mitocondrial (Liu et al., 2011), el estrés de retículo, la apoptosis y mejoran el flujo sanguíneo cerebral (Iliiff et al., 2010).

La acción antiinflamatoria mediada por los EETs se pierde rápidamente cuando se metaboliza gracias a la epóxido hidrolasa soluble (sEH de su acrónimo en inglés, *Soluble epoxyde hydrolase*), a los correspondientes dioles (ácidos dihidroecosatrienoicos (DHET de su acrónimo en inglés, *Dihydroecosatrienoic*) que tienen propiedades proinflamatorias. Por ello, la inhibición de la sEH ha demostrado la capacidad de mantener títulos endógenos de EpFA elevados permitiendo su acción biológica como la antiinflamatoria, entre otras.

La proteína sEH está codificada en el gen *EPHX2* y se expresa en diferentes tejidos, incluidos el hígado, el corazón, el bazo, la vejiga urinaria, el endotelio vascular, los pulmones, la placenta, la piel, los riñones y el cerebro (Sura et al., 2008). La sEH es una enzima bifuncional de 62kD localizada tanto en el citosol como en los peroxisomas de las células. El dominio N-terminal tiene una actividad fosfatasa que hidroliza los fosfolípidos, mientras que el dominio C-terminal presenta la actividad epóxido hidrolasa que convierte

los epoxiácidos en los correspondientes metabolitos dioles que son más solubles en agua y, por lo tanto, se excretan fácilmente (Inceglou et al., 2013; Spector y Kim, 2015).

Como se ha mencionado la sEH se expresa en el cerebro de diversas especies así como en humanos. En ratas, se ha demostrado su expresión en neuronas y células de músculo liso arteriolar en el cerebro, que corroboran su función en la regulación del tono vascular (Iliiff et al., 2007). En ratones, la sEH también se expresa en astrocitos, concretamente en las terminales astrocíticas (Marowsky et al., 2009).

En el cerebro se observa una expresión más elevada en la corteza, el hipocampo, la amígdala y el cuerpo estriado (Marowsky et al., 2009). En cerebro humano la sEH se expresa en neuronas, oligodendrocitos, astrocitos y células del epéndimo (Sura et al., 2008). De manera similar, en el cerebro humano de individuos con deterioro cognitivo vascular se demostró un incremento de la expresión de la sEH en astrocitos y neuronas (Nelson et al., 2014). El papel de sEH en la regulación en la neuroinflamación en particular se ha establecido en varios modelos animales. Su actividad *in vivo* ha sido investigada en los últimos años gracias a una serie de compuestos que inhiben la sEH (Rose et al., 2010) (Figura 3). La inhibición de la sEH ha demostrado la capacidad de mantener niveles endógenos de EpFA, que permite su actividad biológica (Inceoglu et al., 2006).

Los efectos antiinflamatorios de los EETs naturales se han descrito en diferentes modelos animales de diversas patologías. Se han evaluado para tratar la

FIGURA 3

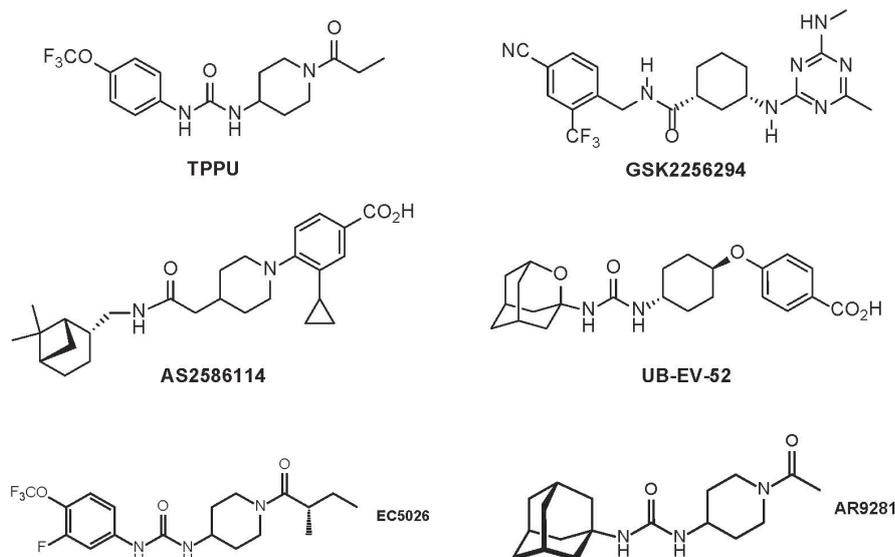


Figura 3. Estructuras químicas de los principales inhibidores de la epóxido hidrolasa soluble utilizados en estudios preclínicos y en ensayos clínicos.

diabetes, la hipertensión, el accidente cerebrovascular, la lesión cerebral traumática, la epilepsia, el deterioro cognitivo, la demencia, la depresión, la enfermedad de Parkinson y el dolor neuropático (Pallàs et al., 2020). Hace algunas décadas, se describió que la inhibición de sEH podría ser una estrategia terapéutica en algunas enfermedades relacionadas con la edad a través de la mayor disponibilidad de EETs (Zarriello et al., 2019) (Figura 4). Diferentes trabajos han relacionado el efecto antiinflamatorio de los inhibidores de sEH con el aumento de los niveles de EET que previenen la amplificación de las citocinas proinflamatorias y los niveles de metabolitos del óxido nítrico (Schmelzer et al., 2005; Zarriello et al., 2019).

Específicamente, varios trabajos han demostrado los efectos beneficiosos de la inhibición de la sEH en modelos de lesión cerebral inducida por isquemia (Prakash y Carmichael, 2005; Westphal, et al., 2015). Como ejemplo, en las células endoteliales vasculares, la lesión arterioesclerótica causa inflamación al reducir la actividad de PPAR- γ que se evita mediante cambios en los procesos de flujo laminar vascular. La presencia de EETs en la preparación de las células endoteliales vasculares condujo a un efecto antiinflamatorio al aumentar la actividad de PPAR- γ (Liu et al., 2005). Los autores sugirieron que los EET son reguladores clave de la salud neuronal y el flujo cerebrovascular en condiciones isquémicas, señalando así que el sEHi tiene una función neuroprotectora en esas condiciones patológicas (Zhang et al., 2007, 2013; Wang et al. 2013; Iliff y Alkayed, 2009).

Otros estudios sugieren que los EETs mejoran del deterioro cognitivo inducido por la alteración vascu-

lar, además de la isquemia, por ejemplo, el deterioro cognitivo vascular relacionado con la edad (Nelson et al., 2014). También está bien documentado que los EETs producidos por los nervios perivasculares median la vasodilatación neurogénica (Iliff y Alkayed, 2009). La participación de los EETs y cambios en la actividad de sEH se observó también en modelos de convulsiones en roedores (Inceoglu et al., 2013; Hung et al., 2015). Los efectos beneficiosos que se observaron en esos modelos incluyeron tanto las propiedades antiinflamatorias de los EETs como del tratamiento con inhibidores de la sEH. Curiosamente, los ratones sEH-KO y los ratones tratados con el inhibidor muestran una reducción de las crisis convulsivas, una disminución del edema cerebral, una reducción del daño del tejido cerebral y de la apoptosis y una recuperación de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica después de una lesión cerebral postraumática (Hung et al., 2017).

Asimismo, la delección del gen *Ephx2* en ratones y la inhibición farmacológica de la sEH redujo el tamaño del infarto después de un accidente cerebrovascular isquémico y tuvo un efecto neuroprotector a través de mecanismos no vasculares (Dorrance et al., 2005; Zang et al., 2013) porque se previno la degradación de EETs. Además, los efectos beneficiosos de los EETs y los inhibidores de sEH también se describen en modelos animales de plegamiento incorrecto de proteínas (Poli et al., 2013).

Por todo lo anterior, los EETs se consideran potenciales agentes neuroprotectores por sus efectos antiinflamatorios, antipiréticos, antitrombóticos y proangiogénicos, y mejoran la función mitocondrial y la

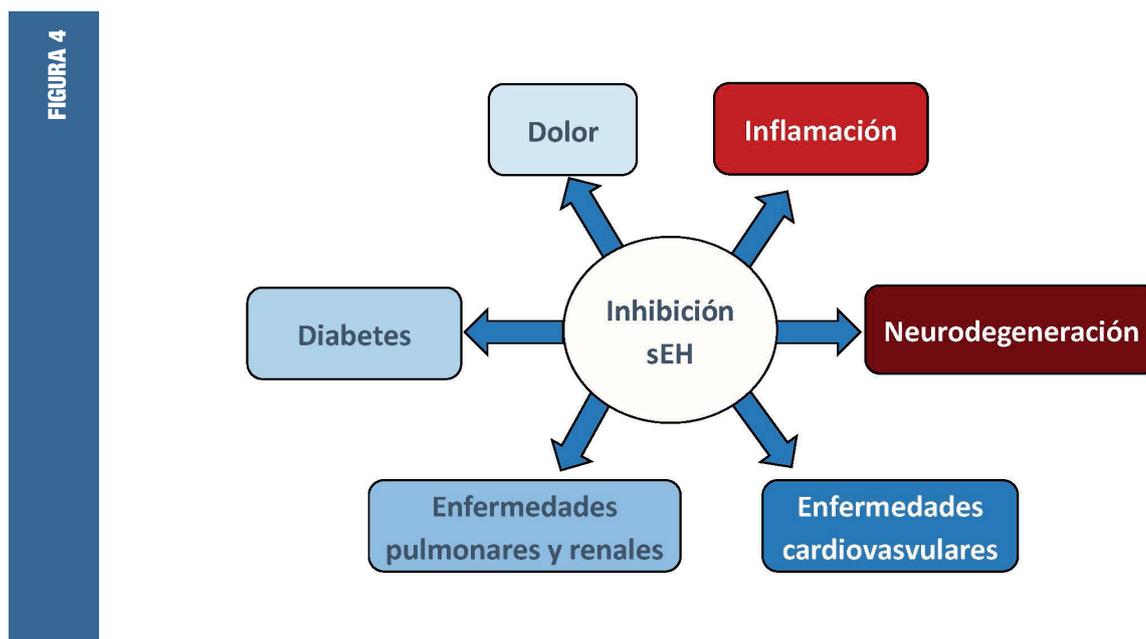


Figura 4. Indicaciones clínicas potenciales para los inhibidores de la epóxido hidrolasa soluble (sEH).

biogénesis (Lliff and Alkayed, 2009). Los inhibidores de sEH bloquean la degradación de EET y estabilizan sus niveles *in vivo*. Recientemente se ha demostrado que la delección o modificación genética de la sEH reduce la neuroinflamación tras hemorragia intracranial (Wu et al., 2017) y la gliosis (Chen et al., 2020).

En un paradigma de exposición a un compuesto proconvulsivo, la inhibición de la sEH evitó la neuroinflamación (activación microglial) en el hipocampo (Vito et al., 2014). Esta estrategia ha sido probada en varios modelos de inflamación y patologías asociadas con la inflamación, incluidos los modelos de dolor inducido por carragenina, de hipertensión inducida por angiotensina en ratas y de neuroinflamación después de una convulsión (Morisseau et al., 2010; Imig et al., 2005; Inceoglu et al., 2013). La administración de inhibidores de la sEH también mostraron efecto antiinflamatorio en un modelo de ratón scrapie con neuroinflamación (Poli et al., 2013), o efectos neuroprotectores en modelos de isquemia y paro cardíaco (Lliff et al., 2009; Wang et al., 2013) (figura 4).

Dos inhibidores de sEH estructuralmente diferentes han demostrado ser seguros en ensayos clínicos en humanos para otras indicaciones periféricas (AR9281 para hipertensión y GSK2256294 para diabetes mellitus, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y hemorragia subaracnoidea) (Rose et al., 2010, Lazaar et al., 2016) (figura 3). Un tercer inhibidor, EC5026 (figura 3), se encuentra en ensayos clínicos de Fase I para el dolor crónico. Este hecho, sin duda, acelera el desarrollo de nuevas sEH para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y evita incertidumbres sobre la posibilidad de efectos angiogénicos al inhibir la sEH.

Recientemente se ha demostrado que la delección o modificación genética de sEH reduce la inflamación neuronal después de hemorragia intracranial (Wu et al., 2017) y gliosis (Chen et al., 2020). Además, la inhibición de la sEH muestra un potente efecto vasodilatador en el cerebro.

En resumen, se ha demostrado que la inhibición farmacológica de la sEH tiene efectos beneficiosos en enfermedades cardiovasculares, renales, metabólicas e inflamatorias en modelos murinos. Los efectos beneficiosos se deben a que la inhibición de sEH estabiliza los EETs y otros epoxiácidos al evitar su conversión en DHET u otros dioles de los ácidos grasos correspondientes (figura 2). Por lo tanto, la inhibición de la enzima preserva el efecto antiinflamatorio de los EETs, beneficiando la función cerebral (Wang et al., 2013). Este efecto antiinflamatorio es de particular interés para otras enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson o la enfermedad de Alzheimer caracterizadas por la acumulación de proteínas aberrantes en el cerebro.

Recientemente, se ha validado la sEH como una nueva diana siendo un enfoque novedoso en el descubrimiento y desarrollo de fármacos eficaces para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, focalizando su actividad terapéutica en el proceso de neuroinflamación que acontece en el desarrollo de la enfermedad (Griñan-Ferré et al., 2020; Chen et al., 2020).

Validación de la epóxido hidrolasa soluble como diana para la enfermedad de Alzheimer

Como se mencionó, se ha propuesto que la inhibición de sEH puede tener efectos terapéuticos en diversas enfermedades inflamatorias. De hecho, se han descubierto varios inhibidores potentes de sEH biodisponibles por vía oral, y dos de ellos han demostrado ser seguros en ensayos clínicos en humanos. El AR9281 inhibidor de la sEH que se postuló para el tratamiento de la hipertensión por sus efectos vasodilatadores, y que se abandonó en fase II; el GSK2256294, que es un inhibidor de la sEH que no atraviesa la barrera hematoencefálica y que se ha estudiado para el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y actualmente está en fase II para el tratamiento de fase inflamatoria en la hemorragia subaracnoidea; y el EC5026 que está siendo estudiado en fase II para el tratamiento del dolor neuropático.

Curiosamente, estudios muy recientes apoyan a la sEH como una nueva diana para la enfermedad de Alzheimer. Por ejemplo, Lee et al. (2019) mostraron que los niveles de sEH están aumentados en el cerebro de ratones transgénicos APP/PS1 (modelo murino de enfermedad de Alzheimer, que sobreexpresa APP y la presenilina 1). El mismo autor y otros han demostrado que la ablación genética de sEH en ese modelo retrasaba la progresión de la enfermedad de Alzheimer, mejorando los resultados de niveles de cognición y la reducción de la placa amiloide (Lee et al., 2019; Cheng et al., 2020). Asimismo, se ha demostrado que la sEH se expresa diferencialmente en cerebro de modelos de ratón de enfermedad de Alzheimer familiar (5XFAD) y esporádico (SAMP8) (Griñan-Ferré et al., 2020). Finalmente, y de forma muy significativa para validar la sEH como diana terapéutica para la enfermedad de Alzheimer se ha demostrado que los niveles proteicos de sEH se encuentran incrementados en cerebro de pacientes diagnosticados de enfermedad de Alzheimer (Braak II / IV) (Griñan-Ferré et al., 2020).

La validación de la diana se ha refrendado también a través de la evaluación de la implicación directa de

la inhibición de la sEH con la interacción de ésta con los inhibidores específicos como TPPU, AS-2586114 o UB-EV-52, (figura 3) (Rose et al., 2010; Miura et al., 2011; Vazquez et al., 2017), demostrando que el tratamiento *in vivo* con los inhibidores estabiliza la proteína ante un choque térmico y con la evaluación del cambio de los niveles de mediadores de lípidos reguladores en la corteza de los ratones SAMP8 (Griñán-Ferré et al., 2020). Asimismo, se demostró que el nivel de mediadores de lípidos proinflamatorios corteza como la prostaglandina D2 y tromboxano B2 se reduce en el cerebro de ratones tras el tratamiento con diversos inhibidores de la sEH en referencia al grupo de control. Al mismo tiempo, los ácidos grasos epoxi antiinflamatorios, incluidos los del ácido γ -linoleico y otros ácidos grasos polinsaturados son están elevados en los grupos tratados verificando la inhibición de la sEH *in vivo* por diferentes compuestos (Griñán-Ferré et al., 2020).

Por otra parte, se ha demostrado que la administración oral de inhibidores de la sEH previene la pérdida de memoria a corto y largo plazo en modelos murinos de enfermedad de Alzheimer. Esta mejora cognitiva se correlaciona con la reducción del procesamiento amiloidogénico de la APP y en la disminución del número de placas en los cerebros de los animales tratados con inhibidores de la sEH. Además, los inhibidores de la sEH redujeron también la hiperfosforilación de la tau. Las evidencias publicadas muestran que diferentes inhibidores de la sEH, a través de la interacción con este enzima, son eficaces en reducir los dos principales marcadores histopatológicos de la enfermedad de Alzheimer además de mejorar la cognición en modelos murinos (Griñán-Ferré et al., 2020; Cheng et al., 2020).

Así mismo, Chen et al. demostraron que inhibiendo sEH con el TPPU o tratando con el 14,15-EET (uno de los epoxiácidos más estudiado) se mejoraba la biogénesis lisosomal y el aclaramiento de A β en cultivos de astrocitos. Estos mismos autores encontraron que la delección genética de *Ephx2* (que codifica para la sEH) reduce la deposición de A β en los cerebros de ratones modelo 5XFAD y que esta mejora también se produce si los animales se tratan con el TPPU o mediante la infusión del 14,15-EET en el hipocampo de ratones 5XFAD. Es este último caso se previno la agregación de A β y también revirtió la deposición de A β (Cheng et al. 2020).

Hemos expuesto anteriormente como en las enfermedades neurodegenerativas existe una inflamación basal, crónica y silente mediada por las células gliales que está relacionada con un desequilibrio de citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias. El tratamiento de modelos animales de enfermedad de Alzheimer con inhibidores de la sEH fue eficaz en

modificar los niveles de estas citocinas, como la IL-1 β , la CCL3 y el TNF α . Es importante destacar que el amilode activa el inflammasoma que, a su vez, media la maduración de la IL-1 β en células microgliales (Couturier et al., 2016) y que actúa sobre diferentes mecanismos implicados en la neurodegeneración como el aumento del estrés oxidativo o el estrés de retículo. En el caso de los inhibidores de la sEH también se redujeron los marcadores de estrés de retículo y de estrés oxidativo en modelos murinos de la enfermedad de Alzheimer (Griñán-Ferré et al., 2020).

En resumen, los niveles de sEH están alterados en modelos de ratón y, lo que es más importante, en el cerebro de pacientes con enfermedad de Alzheimer. La delección de la sEH, la administración de los EET o la inhibición farmacológica de la sEH produce una serie de efectos beneficiosos a nivel cerebral, como la reducción de la inflamación, de los marcadores de estrés oxidativo, de la carga amiloide y de la patología de la tau, mejorando el estado cognitivo en modelos animales de neurodegeneración y de enfermedad de Alzheimer (figura 5 en página siguiente). Todo ello apunta a que los inhibidores de la sEH podrían representar una opción nueva como tratamiento modificador de la progresión de la enfermedad de Alzheimer, en monoterapia o como un tratamiento combinado con la actual terapia sintomática, como por ejemplo el donepezilo.

FIGURA 5

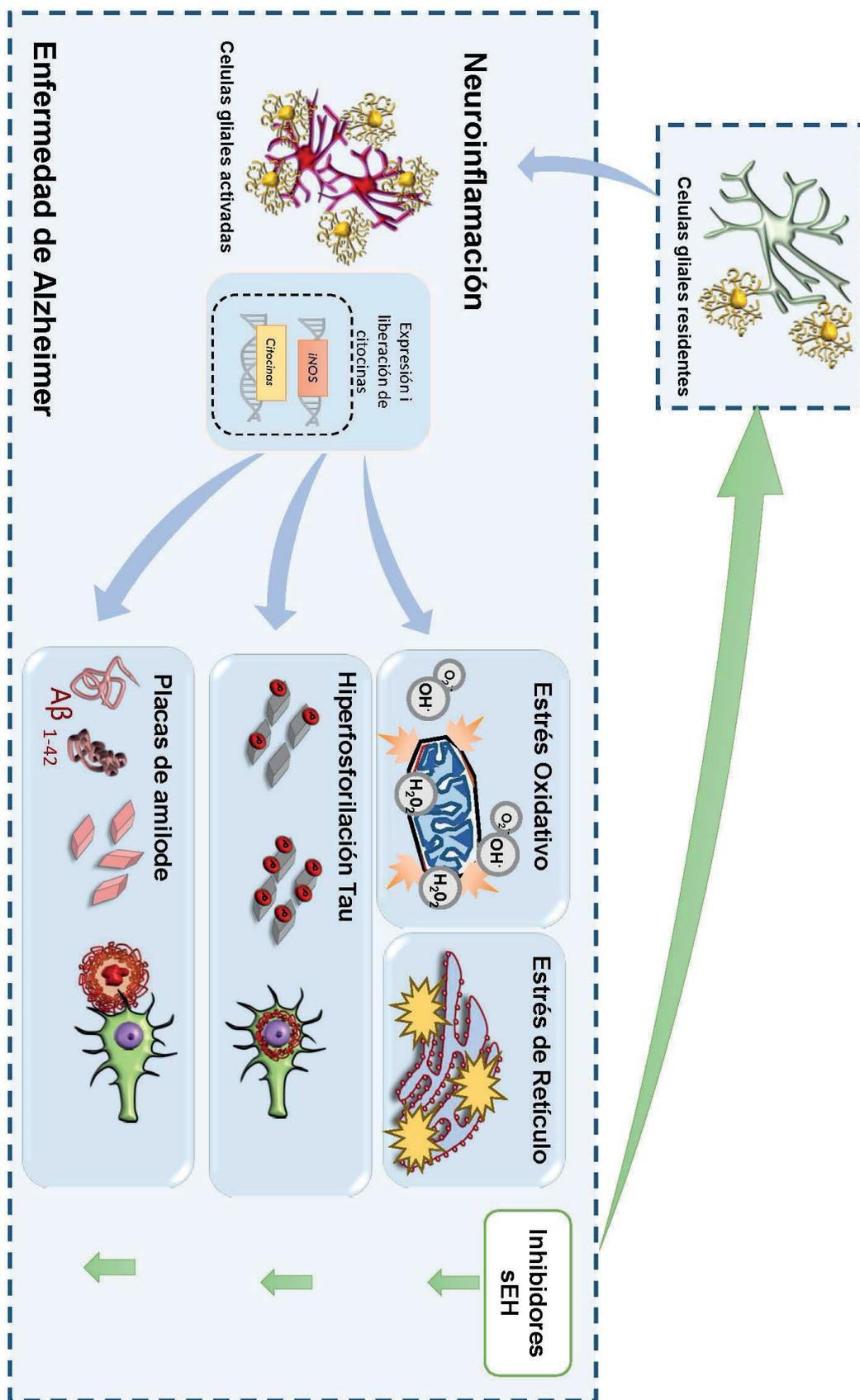


Figura 5. Principales cambios moleculares e histopatológicos relacionados con la neuroinflamación en la enfermedad de Alzheimer. Papel de la inhibición de la epóxido hidrolasa soluble (sEH).

Referencias

- Bennett DA, Yu L, De Jager PL. Building a pipeline to discover and validate novel therapeutic targets and lead compounds for Alzheimer's disease. *Biochem Pharmacol.* 2014 Apr 15;88(4):617-30.
- Bhadbhade Baglietto-Vargas D, Laferla FM. The Role of Tau in Alzheimer's Disease and Related Disorders. Vol. 17, *CNS Neuroscience and Therapeutics.* Wiley-Blackwell; 2011. p. 514-24.
- Briggs R, Kennelly SP, O'Neill D. Drug treatments in Alzheimer's disease. *Clin Med J R Coll Physicians London.* 2016;16(3):247-53.
- Chen W, Wang M, Zhu M, Xiong W, Qin X, Zhu X. 14,15-Epoxyeicosatrienoic Acid Alleviates Pathology in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Neurosci.* 2020 14;40(42):8188-8203.
- Colović MB, Krstić DZ, Lazarević-Pašti TD, Bondžić AM, Vasić VM. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Curr Neuropharmacol.* 2013;11(3):315-335.
- Couturier J, Stancu IC, Schakman O, Pierrot N, Huaux F, Kienlen-Campard P, Dewachter I, Octave JN. Activation of phagocytic activity in astrocytes by reduced expression of the inflammasome component ASC and its implication in a mouse model of Alzheimer disease. *J Neuroinflammation.* 2016 27;13:20.
- Cummings J, Lee G, Ritter A, Sabbagh M, Zhong K. Alzheimer's disease drug development pipeline: 2020. *Alzheimers Dement (N Y).* 2020;6(1):e12050.
- Cunningham EL, McGuinness B, Herron B, Passmore AP. Dementia. *Ulster Med J.* 2015;84(2):79-87.
- De Paula VJ, Radanovic M, Diniz BS, Forlenza O V. Alzheimer's disease. *Subcell Biochem.* 2012;65:329-52.
- De Strooper B, Karran E (2016) The cellular phase of Alzheimer's disease. *Cell* 164:603-615.
- Dorrance AM, Rupp N, Pollock DM, Newman JW, Hammock BD, Imig JD. An epoxide hydrolase inhibitor, 12-(3-adamantan-1-yl-ureido) dodecanoic acid (AUDA), reduces ischemic cerebral infarct size in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc. Pharmacol.* 2005. 46, 842.
- Ferreira-Vieira TH, Guimaraes IM, Silva FR, Ribeiro FM. Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. *Curr Neuropharmacol.* 2016;14(1):101-15.
- Goedert M, Spillantini MG. A century of Alzheimer's disease. *Science.* 2006 Nov 3;314(5800):777-81.
- Griñán-Ferré C, Codony S, Pujol E, Yang J, Leiva R, Escolano C, Puigoriol-Illamola D, Companys-Aleman J, Corpas R, Sanfeliu C, Pérez B, Loza MI, Brea J, Morisseau C, Hammock BD, Vázquez S, Pallàs M, Galdeano C. Pharmacological Inhibition of Soluble Epoxide Hydrolase as a New Therapy for Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics.* 2020 doi: 10.1007/s13311-020-00854-1.
- Grupo de Estudio de Neurología de la Conducta y Demencias de la Sociedad Española de Neurología. Molinuevo JL, Peña-Casanova J, editores. Guía oficial para la práctica clínica en demencias: conceptos, criterios y recomendaciones. Barcelona: Prous; 2009.
- Heneka MT, Carson MJ, El Khoury J, Landreth GE, Brosseron F, Feinstein DL, Jacobs AH, Wyss-Coray T, Vitorica J, Ransohoff RM, Herrup K, Frautschy SA, Finsen B, Brown GC, Verkhratsky A, Yamanaka K, Koistinaho J, Latz E, Halle A, Petzold GC, Town T, Morgan D, Shinohara ML, Perry VH, Holmes C, Bazan NG, Brooks DJ, Hunot S, Joseph B, Deigendesch N, Garaschuk O, Boddeke E, Dinarello CA, Breitner JC, Cole GM, Golenbock DT, Kummer MP. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2015 Apr;14(4):388-405.
- Hung TH, Shyue SK, Wu CH, Chen CC, Lin CC, Chang CF, Chen SF. Deletion or inhibition of soluble epoxide hydrolase protects against brain damage and reduces microglia-mediated neuroinflammation in traumatic brain injury. *Oncotarget.* 2017;8(61):103236-103260.
- Hung YW, Hung SW, Wu YC, Wong LK, Lai MT, Shih YH, Lee TS, Lin YY. Soluble epoxide hydrolase activity regulates inflammatory responses and seizure generation in two mouse models of temporal lobe epilepsy. *Brain Behav Immun.* 2015 :118-29.
- Iliff JJ, Alkayed NJ. Soluble Epoxide Hydrolase Inhibition: Targeting Multiple Mechanisms of Ischemic Brain Injury with a Single Agent. *Future Neurol.* 2009;4(2):179-99.
- Iliff JJ, Close LN, Selden NR, Alkayed NJ. A novel role for P450 eicosanoids in the neurogenic control of cerebral blood flow in the rat. *Exp Physiol.* 2007;92(4):653-8.
- Iliff, J.J.; Jia, J.; Nelson, J.; Goyagi, T.; Klaus, J.; Alkayed, N.J. Epoxyeicosanoid signaling in CNS function and disease. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2010, 91, 68-84.
- Imig JD, Zhao X, Zaharis CZ, Olearczyk JJ, Pollock DM, Newman JW, Kim IH, Watanabe T, Hammock BD. An orally active epoxide hydrolase inhibitor lowers blood pressure and provides renal protection in salt-sensitive hypertension. *Hypertension.* 2005;46(4):975-81.
- Imig JD. Epoxide hydrolase and epoxygenase metabolites as therapeutic targets for renal diseases. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005;289(3):F496-503.
- Inceoglu B, Bettaieb A, Trindade da Silva CA, Lee KS, Haj FG, Hammock BD. Endoplasmic reticulum stress in the peripheral nervous system is a significant driver of neuropathic pain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2015;112(29):9082-7.
- Inceoglu B, Jinks SL, Schmelzer KR, Waite T, Kim IH, Hammock BD. Inhibition of soluble epoxide hydrolase reduces LPS-induced thermal hyperalgesia and mechanical allodynia in a rat model of inflammatory pain. *Life Sci.* 2006;79(24):2311-9.
- Inceoglu B, Zolkowska D, Yoo HJ, Wagner KM, Yang J, Hackett E, Hwang SH, Lee KS, Rogawski MA, Morisseau C, Hammock BD. Epoxy fatty acids and inhibition of the soluble epoxide hydrolase-selectively modulate GABA mediated neurotransmission to delay onset of seizures. *PLoS ONE.* 2013;8(12):e80922.
- Lazaar AL, Yang L, Boardley RL, Goyal NS, Robertson J, Baldwin SJ, Newby DE, Wilkinson IB, Tal-Singer R, Mayer RJ, Cheriyan J. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and adverse event profile of GSK2256294, a novel soluble epoxide hydrolase inhibitor. *Br J Clin Pharmacol.* 2016 May;81(5):971-9.
- Lee, H.-T.; Lee, K.-I.; Chen, C.-H.; Lee, T.-S. Genetic deletion of soluble epoxide hydrolase delays the progression of Alzheimer's disease. *J. Neuroinflammation* 2019, 16, 267.
- Lindwall G, Cole RD. Phosphorylation affects the ability of tau protein to promote microtubule assembly. *J Biol Chem.* 1984;259(8):5301-5
- Liu J, Chang L, Song Y, Li H, Wu Y. The role of NMDA receptors in Alzheimer's disease. Vol. 13, *Frontiers in Neuroscience.* Frontiers Media S.A.; 2019.
- Liu, L.; Chen, C.; Gong, W.; Li, Y.; Edin, M.L.; Zeldin, D.C.; Wang, D.W. Epoxyeicosatrienoic acids attenuate reactive oxygen species level, mitochondrial dysfunction, caspase activation, and apoptosis in carcinoma cells treated with arsenic trioxide. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2011, 339, 451-463.

32. Liu, Y.; Zhang, Y.; Schmelzer, K.; Lee, T.-S.; Fang, X.; Zhu, Y.; Spector, A.A.; Gill, S.; Morisseau, C.; Hammock, B.D. The anti-inflammatory effect of laminar flow: the role of PPAR γ , epoxyeicosatrienoic acids, and soluble epoxide hydrolase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2005, 102, 16747–16752
33. Marowsky A, Burgener J, Falck JR, Fritschy JM, Arand M. Distribution of soluble and microsomal epoxide hydrolase in the mouse brain and its contribution to cerebral epoxyeicosatrienoic acid metabolism. *Neuroscience.* 2009;163(2):646-61.
34. Martin Prince A, Wimo A, Guerchet M, Gemma-Claire Ali M, Wu Y-T, Prina M, et al. World Alzheimer Report 2015 The Global Impact of Dementia An Analysis of prevalence, Incidence, cost and Trends.
35. Miura M, Sato I, Kiyohara I, et al. Cyclic amino compound, or salt thereof. JP2011016743 (2011).
36. Morisseau C, Inceoglu B, Schmelzer K, Tsai HJ, Jinks SL, Hegedus CM, Hammock BD. Naturally occurring monoepoxides of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid are bioactive antihyperalgesic lipids. *J Lipid Res.* 2010;51(12):3481-90.
37. Nelson JW, Young JM, Borkar RN, Woltjer RL, Quinn JF, Silbert LC, Grafe MR, Alkayed NJ. Role of soluble epoxide hydrolase in age-related vascular cognitive decline. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2014;113-115:30-37.
38. Pallàs M, Vázquez S, Sanfeliu C, Galdeano C, Grifán-Ferré C. Soluble Epoxide Hydrolase Inhibition to Face Neuroinflammation in Parkinson's Disease: A New Therapeutic Strategy. *Biomolecules.* 2020 1;10(5):703.
39. Pimplikar SW. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: from pathogenesis to a therapeutic target. *J Clin Immunol.* 2014 Jul;34 Suppl 1:S64-9.
40. Poli, G.; Corda, E.; Martino, P.A.; Dall'Ara, P.; Bareggi, S.R.; Bondiolotti, G.; Iulini, B.; Mazza, M.; Casalone, C.; Hwang, S.H. Therapeutic activity of inhibition of the soluble epoxide hydrolase in a mouse model of scrapie. *Life Sci.* 2013, 92, 1145–1150.
41. Prakash, R.; Carmichael, S.T. Blood–brain barrier breakdown and neovascularization processes after stroke and traumatic brain injury. *Curr. Opin. Neurol.* 2015, 28, 556
42. Rogers JL, Kesner RP. Cholinergic Modulation of the Hippocampus during Encoding and Retrieval of Tone/Shock-Induced Fear Conditioning. *Learn Mem.* 2004;11(1):102–7.
43. Rose TE, Morisseau C, Liu JY, Inceoglu B, Jones PD, Sanborn JR, Hammock BD. 1-Aryl-3-(1-acylpiperidin-4-yl)urea inhibitors of human and murine soluble epoxide hydrolase: structure-activity relationships, pharmacokinetics, and reduction of inflammatory pain. *J Med Chem.* 2010;53(19):7067-75.
44. Schauburger E, Peinhaupt M, Cazares T, Lindsley AW. Lipid Mediators of Allergic Disease: Pathways, Treatments, and Emerging Therapeutic Targets. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2016;16(7):48
45. Schmelzer, K.R.; Kubala, L.; Newman, J.W.; Kim, I.-H.; Eiserich, J.P.; Hammock, B.D. Soluble epoxide hydrolase is a therapeutic target for acute inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2005, 102, 9772–9777.
46. Spector AA, Kim HY. Cytochrome P450 epoxygenase pathway of polyunsaturated fatty acid metabolism. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1851(4):356-65.
47. Sura P, Sura R, Enayetallah AE, Grant DF. Distribution and expression of soluble epoxide hydrolase in human brain. *J Histochem Cytochem.* 2008;56(6):551-9.
48. Thawkar BS, Kaur G. Inhibitors of NF- κ B and P2X7/NLRP3/Caspase 1 pathway in microglia: Novel therapeutic opportunities in neuroinflammation induced early-stage Alzheimer's disease. Vol. 326, *Journal of Neuroimmunology.* Elsevier B.V.; 2019. p. 62–74.
49. Vázquez S, Valverde E, Leiva R, Vázquez-Carrera M, Codony D, Analogs of adamantylureas as soluble epoxide hydrolase inhibitors. WO 2017017048 (2017).
50. Vito ST, Austin AT, Banks CN, Inceoglu B, Bruun DA, Zolkowska D, Tancredi DJ, Rogawski MA, Hammock BD, Lein PJ. Post-exposure administration of diazepam combined with soluble epoxide hydrolase inhibition stops seizures and modulates neuroinflammation in a murine model of acute TETS intoxication. *Tox. App. Pharmacol.* 2014;281(2):185-94.
51. Wagner K, Inceoglu B, Dong H, Yang J, Hwang SH, Jones P, Morisseau C, Hammock BD. Comparative efficacy of 3 soluble epoxide hydrolase inhibitors in rat neuropathic and inflammatory pain models. *European journal of pharmacology.* 2013;700(1-3):93-101.
52. Walsh DM, Selkoe DJ. Deciphering the molecular basis of memory failure in Alzheimer's disease. Vol. 44, *Neuron.* Elsevier; 2004. p. 181–93.
53. Wang J, Fujiyoshi T, Kosaka Y, Raybuck JD, Lattal KM, Ikeda M, Herson PS, Koerner IP. Inhibition of soluble epoxide hydrolase after cardiac arrest/cardiopulmonary resuscitation induces a neuroprotective phenotype in activated microglia and improves neuronal survival. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism.* 2013;33(10):1574-81.
54. Wang R, Reddy PH. Role of Glutamate and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2017;57(4):1041-1048.
55. Wang WY, Tan MS, Yu JT, Tan L. Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in Alzheimer's disease. Vol. 3, *Annals of Translational Medicine.* AME Publishing Company; 2015.
56. Westphal, C.; Konkel, A.; Schunck, W.-H. Cytochrome p450 enzymes in the bioactivation of polyunsaturated fatty acids and their role in cardiovascular disease. In *Monooxygenase, Peroxidase and Peroxygenase Properties and Mechanisms of Cytochrome P450*; Springer, 2015; pp. 151–187.
57. Wu CH, Shyue SK, Hung TH, Wen S, Lin CC, Chang CF, Chen SF (2017) Genetic deletion or pharmacological inhibition of soluble epoxide hydrolase reduces brain damage and attenuates neuroinflammation after intracerebral hemorrhage. *J Neuroinflammation* 2017 v 25;14(1):230.
58. Zariello, S.; Tuazon, J.P.; Corey, S.; Schimmel, S.; Rajani, M.; Gorsky, A.; Incontri, D.; Hammock, B.D.; Borlongan, C. V. Humble beginnings with big goals: Small molecule soluble epoxide hydrolase inhibitors for treating CNS disorders. *Prog. Neurobiol.* 2019, 172, 23–39.
59. Zhang YW, Thompson R, Zhang H, Xu H. APP processing in Alzheimer's disease. Vol. 4, *Molecular Brain.* BioMed Central; 2011. p. 3.
60. Zhang, W.; Davis, C.M.; Edin, M.L.; Lee, C.R.; Zeldin, D.C.; Alkayed, N.J. Role of endothelial soluble epoxide hydrolase in cerebrovascular function and ischemic injury. *PLoS One* 2013, 8. Z (4):e61244.
61. Zhang, W.; Koerner, I.P.; Noppens, R.; Grafe, M.; Tsai, H.-J.; Morisseau, C.; Luria, A.; Hammock, B.D.; Falck, J.R.; Alkayed, N.J. Soluble epoxide hydrolase: a novel therapeutic target in stroke. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2007, 27, 1931–1940.