



## Revisión

# Inmunoterapia beta-amiloide: ¿la esperanza para la enfermedad de Alzheimer?

Amyloid-beta immunotherapy: the hope for Alzheimer disease?

Alvaro Barrera-Ocampo<sup>1</sup>, Francisco Lopera<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Grupo de Investigación Natura, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Icesi, Cali, Colombia.

<sup>2</sup> Grupo de Neurociencias de Antioquia, Escuela de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Barrera-Ocampo A, Lopera F. Amyloid-beta immunotherapy: the hope for Alzheimer disease?. *Colomb Med (Cali)*. 2016; 47(4): 203-12.

© 2016 Universidad del Valle. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution License, que permite el uso ilimitado, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que el autor original y la fuente se acrediten.

### Historia:

Recibido: 10 noviembre 2016  
Revisado: 12 diciembre 2016  
Aceptado: 25 diciembre 2016

### Palabras clave:

Péptidos beta-amiloide, anticuerpos, disfunción cognitiva, Enfermedad de Alzheimer

### Keywords:

Amyloid beta-Peptides, antibodies, cognitive dysfunction, Alzheimer disease, adult, Immunotherapy, Vaccination, Immunization

### Resumen

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más frecuente de demencia de inicio en el adulto, caracterizada por un deterioro progresivo en la cognición y la memoria. No hay cura para la enfermedad y los tratamientos actuales son sólo sintomáticos. El descubrimiento de fármacos es un proceso costoso y que consume mucho tiempo; en la última década no se han encontrado nuevos fármacos para la EA a pesar de los esfuerzos de la comunidad científica y las compañías farmacéuticas. La inmunoterapia contra A $\beta$  es uno de los enfoques más prometedores para modificar el curso de la EA. Esta estrategia terapéutica utiliza péptidos sintéticos o anticuerpos monoclonales (mAb) para disminuir la carga de A $\beta$  en el cerebro y retardar la progresión de la enfermedad. Por lo tanto, este artículo discutirá los principales aspectos de la neuropatogénesis de la EA, el tratamiento farmacológico clásico, así como la inmunización activa y pasiva describiendo los prototipos de fármacos evaluados en diferentes ensayos clínicos.

### Abstract

Alzheimer disease (AD) is the most prevalent form of dementia of adult-onset, characterized by progressive impairment in cognition and memory. There is no cure for the disease and the current treatments are only symptomatic. Drug discovery is an expensive and time-consuming process; in the last decade no new drugs have been found for AD despite the efforts of the scientific community and pharmaceutical companies. The A $\beta$  immunotherapy is one of the most promising approaches to modify the course of AD. This therapeutic strategy uses synthetic peptides or monoclonal antibodies (mAb) to decrease the A $\beta$  load in the brain and slow the progression of the disease. Therefore, this article will discuss the main aspects of AD neuropathogenesis, the classical pharmacologic treatment, as well as the active and passive immunization describing drug prototypes evaluated in different clinical trials.

### Autor de correspondencia:

Alvaro Barrera-Ocampo. Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Grupo de Investigación Natura, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Icesi, Cl. 18 #122-135, Phone: +57 2 5552334 (Ext. 8856), Fax: +57 2 5551441. Cali, Colombia. E-mail: aabarrera@icesi.edu.co.

Francisco Lopera. Grupo de Neurociencias de Antioquia, Escuela de Medicina, Universidad de Antioquia, Sede de Investigación Universitaria - SIU. Str. 62 No. 52-59, Medellín, Colombia, Phone: +57 4 2196090, Fax: 57 - 4 - 2196444. Email: floperar@gmail.com

## Introducción

La demencia es un síndrome caracterizado por la pérdida o deterioro de la memoria y otras funciones cognitivas como el habla, el lenguaje, el razonamiento, el juicio y el pensamiento. La alteración de estas funciones interfiere con la realización de actividades cotidianas. Se estima que en 2015 más de 46.8 millones de personas en todo el mundo tenían demencia y se espera que este número se duplique cada 20 años hasta alcanzar 131.5 millones en 2050<sup>1</sup>. Estas cifras son probablemente subestimadas porque no incluyen a las personas en las primeras etapas de la enfermedad y los casos que son mal diagnosticados. Por estas razones, es probable que la demencia se convierta en uno de los problemas de salud más importantes del mundo.

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más frecuente de demencia de inicio en el adulto, caracterizada por deterioro progresivo de la cognición y la memoria, y representa entre el 60% y el 80% de los casos<sup>2</sup>. El mayor número de individuos afectados se puede encontrar en regiones como Estados Unidos, Europa Occidental y China, y también en regiones en desarrollo como el Pacífico occidental y América Latina<sup>3</sup>. Hay muchas otras causas de demencia incluyendo la enfermedad cerebrovascular, la demencia con cuerpos de Lewy (DCL), demencia mixta (EA y demencia vascular, EA y DCL, y la combinación de los tres), degeneración del lóbulo frontotemporal y enfermedad de Parkinson entre otras<sup>2</sup>. Algunos aspectos de estas enfermedades se superponen entre sí haciendo difícil identificar la causa exacta, por lo que el diagnóstico preciso es una tarea compleja. Para diagnosticar adecuadamente la EA, deben descartarse otras formas de demencia. Esto incluye los trastornos metabólicos, endocrinos y nutricionales (Por ejemplo, enfermedad tiroidea, deficiencia de vitamina B12 e intoxicación por metales pesados); infecciones crónicas, tumores cerebrales, hematoma subdural, depresión y demencia inducida por medicamentos<sup>4</sup>. La enfermedad tiene un progreso promedio de 7 a 10 años y aunque la duración es diferente en cada persona con EA, los síntomas parecen desarrollarse en las mismas etapas. Se ha planteado la hipótesis que los cambios en el cerebro comienzan 10 a 20 años antes de que aparezca cualquier manifestación clínica. Se ha establecido que la EA comienza con la muerte neuronal en la corteza entorrinal, una región conectada con el hipocampo que desempeña un papel importante en el aprendizaje y está involucrada en la transformación de las memorias a corto plazo en memorias a largo plazo. La atrofia de estas áreas del cerebro explica los síntomas de olvido observados en las primeras etapas de la enfermedad, sin embargo, otras alteraciones cognitivas, tales como cambios en la atención y la capacidad de resolver problemas están también presentes. La progresión de la demencia a un estadio leve dura de 2 a 5 años y se evidencia por pérdida de memoria, disfunción del lenguaje, dificultad visuoespacial, pérdida del conocimiento y cambios en la personalidad, entre otros. En este punto, la persona y la familia toman conciencia de la enfermedad y es cuando se efectúa el diagnóstico clínico. En la etapa moderada el daño se ha extendido a las regiones de la corteza cerebral que controlan el lenguaje, el razonamiento, el procesamiento sensorial y el pensamiento consciente. Los síntomas de la enfermedad se vuelven más pronunciados y la persona tiene problemas de conducta, por lo que se necesita más supervisión. En la EA, la interrupción de la comunicación neuronal puede causar alucinaciones, delirios, paranoia, estallidos

de ira y también disminución de la capacidad para llevar a cabo tareas rutinarias (Por ejemplo, bañarse, vestirse, leer, escribir y trabajar con números). Esta es la etapa moderada de la EA y suele durar de 2 a 4 años. El estadio severo de la EA se caracteriza por una atrofia generalizada de la corteza cerebral y la ampliación de los ventrículos. La persona se vuelve completamente dependiente de los cuidadores porque es incapaz de reconocer a la familia y amigos. El individuo pierde la capacidad de tragar, controlar la función de la vejiga o el intestino, caminar y dormir.

Las causas de la EA siguen siendo desconocidas, pero la comunidad científica está de acuerdo en que múltiples factores están involucrados en la progresión de la enfermedad y que una sola causa es improbable. Se ha demostrado que varios factores de riesgo están relacionados con el desarrollo de la EA. La edad avanzada es el mayor factor de riesgo para la EA y la mayoría de los pacientes tienen 65 años o más<sup>5</sup>. Otros factores de riesgo incluyen antecedentes familiares, ser un portador de alelo de la Apolipoproteína E-ε4 (APOE-ε4), tener deterioro cognitivo leve (MCI), factores de riesgo de enfermedad cardiovascular (colesterol alto, diabetes tipo 2, hipertensión arterial, tabaquismo, obesidad, etc.), y lesión cerebral traumática<sup>6-10</sup>. Además de los factores antes mencionados, existen pruebas de que los factores de riesgo ambientales, como la calidad del aire, los metales pesados tóxicos y las exposiciones ocupacionales, también pueden contribuir al desarrollo de la EA<sup>11</sup>.

La identificación de los factores de riesgo es un paso clave en el diagnóstico precoz de la EA. En la última década se han desarrollado varias herramientas para controlar el inicio y la progresión de la enfermedad. Cada vez hay más biomarcadores (biomoléculas específicas presentes en sangre o líquido cefalorraquídeo o técnicas de imagen) que permiten identificar los cambios celulares y cerebrales años antes de que comiencen los primeros síntomas clínicos de la demencia. Los biomarcadores actuales de la enfermedad se centran en medir los niveles de Aβ<sub>1-40</sub>, Aβ<sub>1-42</sub> y la proteína Tau en el líquido cefalorraquídeo. Los estudios de imagen (MRI o PET) suelen complementar el análisis de biomarcadores de fluidos. La introducción del Compuesto Pittsburgh B (PiB) radiomarcado, que se une a las placas Aβ en el cerebro, ha permitido rastrear el proceso de agregación usando PET<sup>12</sup>. Recientemente, se ha desarrollado la PET para la proteína Tau, este promete ser un buen biomarcador y puede ser útil para estimar la etapa de la enfermedad en la que se encuentra el paciente<sup>13,14</sup>.

Hasta el momento no existe cura para la enfermedad, los tratamientos disponibles son sólo sintomáticos y la eficacia disminuye a medida que progresa la neurodegeneración. La inmunoterapia contra Aβ es uno de los enfoques más prometedores para modificar el curso de la EA, por lo que esta revisión discutirá los principales aspectos de la inmunización activa y pasiva describiendo los prototipos de fármacos evaluados en diferentes ensayos clínicos.

## Enfermedad de Alzheimer: Patogénesis e Inmunoterapia

### Neuropatogénesis de la Enfermedad de Alzheimer

Los signos patológicos más importantes de la EA son las placas

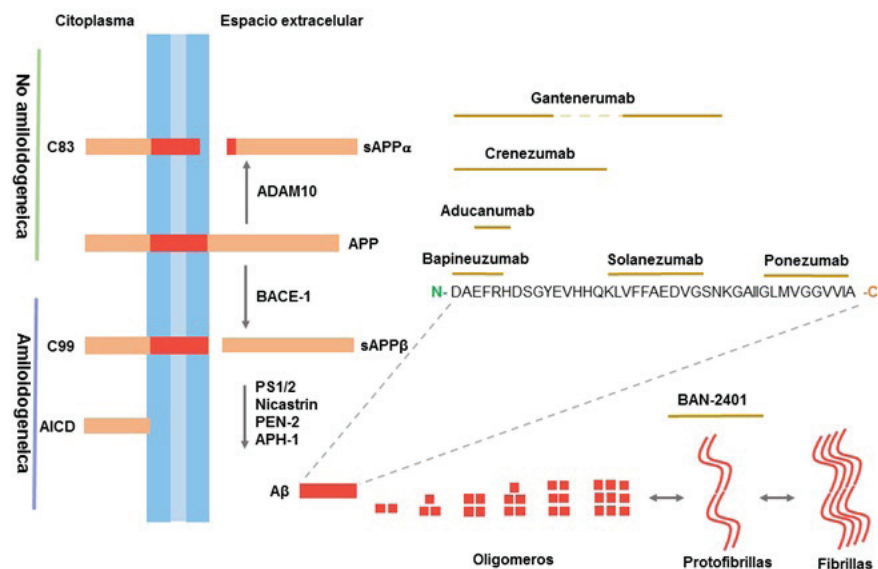
seniles y los ovillos neurofibrilares (NFT). Los primeros son agregados extracelulares de péptidos A $\beta$  y los últimos son agregados intracelulares de la proteína Tau hiperfosforilada, una proteína asociada a microtúbulos<sup>15</sup>. Mientras que en la hipótesis de la cascada amiloide, la evidencia genética, patológica y bioquímica implica la agregación de A $\beta$  como un desencadenante temprano crítico en la cadena de eventos que conducen a la tauopatía, la disfunción neuronal y la demencia<sup>16</sup>, el grado de deposición de Tau se correlaciona con el deterioro cognitivo en la EA<sup>17,18</sup> cuestionando el papel de la deposición de A $\beta$  como el desencadenante de la patogénesis de Tau. Inicialmente, la hipótesis amiloide declaró que la disfunción neuronal y la muerte se producían por los efectos tóxicos de la carga total de A $\beta$ . Recientemente se ha sugerido que no sólo la eliminación de A $\beta$ , sino también su producción pueden estar alteradas en pacientes con EA. Además, nuevos estudios indican que no sólo los péptidos A $\beta$  (A $\beta$ <sub>1-40</sub> y A $\beta$ <sub>1-42</sub>) contribuyen a la disfunción neuronal, sino que las formas oligoméricas de la proteína (pequeños agregados de dos a 12 péptidos) son en realidad más deletéreas a las funciones cerebrales que los agregados A $\beta$  tales como placas seniles<sup>19,20</sup>. Los péptidos A $\beta$  también pueden crecer en fibrillas, que se disponen en láminas  $\beta$  para formar las fibras insolubles de las placas amiloides<sup>21</sup>.

Los análisis post-mortem de cerebros humanos revelan una progresión característica de las placas de A $\beta$  y un patrón regular de aparición de NFT. La progresión de la aparición de las placas A $\beta$  se correlaciona funcionalmente y anatómicamente con las regiones cerebrales afectadas<sup>22,23</sup>. La agregación de A $\beta$  afecta primero las capas II-V del isocórtex, seguidas por la corteza entorrinal, la formación hipocámpal, la amígdala, la corteza insular y cingulada; Se extiende entonces a los núcleos subcorticales, incluyendo el estriado, los núcleos colinérgicos del cerebro anterior basal, el tálamo, el hipotálamo y la sustancia blanca. Mientras que los NFT surgen primero en el locus coeruleus, corteza entorrinal y

áreas límbicas del cerebro, tales como el subículo de la formación hipocámpal, la amígdala, el tálamo y el claustró, y luego se extienden a regiones neocorticales interconectadas<sup>18,24</sup>. La incidencia de placas y ovillos se correlaciona positivamente con la EA, pero hasta ahora no existe relación anatómica entre las lesiones.

### Mecanismo molecular del procesamiento de la proteína precursora amiloide (APP)

La vía proteolítica implicada en el procesamiento de APP ha sido bien caracterizada usando varios modelos *in vitro* e *in vivo*<sup>25,26</sup>. La APP se produce en grandes cantidades en las neuronas y se metaboliza muy rápidamente<sup>27</sup>. Después de su paso por el retículo endoplásmico (ER) y Golgi, la APP es transportada a los terminales axónicos y sinápticos. El procesamiento de la APP tiene lugar en la red trans-Golgi (TGN) y desde allí se puede transportar a la superficie celular o a compartimentos endosómicos. Ambos pasos están mediados por vesículas asociadas a clatrina. Una vez en la superficie celular, la APP puede ser proteolizada por  $\alpha$ -secretasas y el complejo  $\gamma$ -secretasa en un proceso que no genera A $\beta$  y que se conoce como la vía No amiloidogénica (Fig. 1). La otra posibilidad es que la APP puede reinternalizarse en vesículas recubiertas de clatrina en compartimentos endosómicos que contienen  $\beta$ -secretasas y el complejo  $\gamma$ -secretasa. El resultado de la interacción con estas enzimas es la producción de A $\beta$ , que se libera entonces al espacio extracelular o se degrada en los lisosomas. Este proceso se conoce como la vía Amiloidogénica (Fig. 1)<sup>28-30</sup>. La escisión de  $\alpha$ -secretasa está mediada por miembros de la familia de proteínas del dominio desintegrina y metaloproteína (ADAM), siendo ADAM-9, -10, -17 y -19 los candidatos más probables para llevar a cabo esta función<sup>31,32</sup>. El sitio de corte de  $\alpha$ -secretasa se encuentra dentro de la secuencia A $\beta$  y, por lo tanto, evita la formación de este<sup>33</sup>. La actividad enzimática de  $\alpha$ -secretasa genera dos fragmentos. El fragmento N-terminal se denomina APP alfa secretado (sAPP $\alpha$ ) y el fragmento C-terminal (CTF) se denomina



**Figura 1.** Procesamiento de APP y epítopes de mAb en A $\beta$ . En la vía No amiloidogénica, la APP se escinde primero por  $\alpha$ -secretasa (ADAM-10) produciendo dos fragmentos, sAPP $\alpha$  y C<sub>83</sub>, la última es cortada por el complejo  $\gamma$ -secretasa generando los péptidos p<sub>3</sub> y AICD. La vía Amiloidogénica implica el corte de APP por  $\beta$ -secretasa (BACE1) que produce los fragmentos sAPP $\beta$  y C<sub>99</sub>; C<sub>99</sub> se procesa a continuación por el complejo  $\gamma$ -secretasa produciendo los péptidos A $\beta$  y AICD. La Figura muestra la región del epítipo dentro de la secuencia de A $\beta$  reconocida por mAb derivados de secuencia.

CTF<sub>83</sub> debido a la cantidad de residuos de aminoácidos de este péptido (Fig. 1). La correspondiente escisión de CTF<sub>83</sub> por el complejo  $\gamma$ -secretasa genera un péptido pequeño conocido como p<sub>3</sub><sup>34</sup>. La enzima de escisión de la APP de sitio beta 1 (BACE1) es la  $\beta$ -secretasa más importante en el cerebro y es responsable de la producción de los fragmentos sAPP $\beta$  y CTF<sub>99</sub> (Fig. 1). El procesamiento subsiguiente de CTF<sub>99</sub> por el complejo  $\gamma$ -secretasa conduce a la formación de A $\beta$  y el dominio intracelular de APP amino-terminal (AICD) (Fig. 1)<sup>34,35</sup>. Un grupo de proteínas constituye el complejo  $\gamma$ -secretasa. Para este complejo se requieren cuatro proteínas: PS1 o PS2, nicastrina, potenciador de presenilina 2 (PEN-2) y faringe anterior defectuosa-1 (APH-1). La  $\gamma$ -secretasa escinde APP en su región transmembrana para crear A $\beta$ <sub>1-40</sub>/A $\beta$ <sub>1-42</sub> (Fig. 1) o p<sub>3</sub> y AICD<sub>59/57</sub>, un segundo corte en el sitio de escisión  $\epsilon$  produce el fragmento AICD<sub>50</sub><sup>36,37</sup>.

### Péptidos A $\beta$ y agregados

El péptido A $\beta$  puede considerarse el principal producto del procesamiento proteolítico de APP. El péptido se encuentra tanto en el cerebro humano sano como en el cerebro humano afectado en concentraciones nanomolares o incluso más bajas. Hay varias isoformas de A $\beta$  que se diferencian por el número de residuos de aminoácidos en la región C-terminal del péptido. La isoforma A $\beta$ <sub>1-40</sub> tiene 40 residuos y es la especie de A $\beta$  más abundante en el cerebro de pacientes con EA<sup>38</sup>. A $\beta$ <sub>1-42</sub> también está relacionado con la enfermedad porque es menos soluble que A $\beta$ <sub>1-40</sub> y forma agregados más rápido<sup>39</sup>. Los péptidos A $\beta$  tienen un tipo específico de disposición de hoja  $\beta$  que favorece la polimerización y la agregación, dando lugar a la formación de especies oligoméricas que se difunden a través de los fluidos intersticiales. Los monómeros A $\beta$  tienden a agregarse y polimerizarse, formando oligómeros, protofibrillas y fibrillas (Fig. 1). Estudios han demostrado que estos ensamblajes surgen de A $\beta$  de bajo peso molecular (monómeros o dímeros)<sup>40,41</sup>. Sin embargo, hay controversia acerca de la toxicidad de las diferentes formas de A $\beta$ . Los resultados indican que los conjuntos oligoméricos solubles pueden inhibir la actividad electrofisiológica que puede ser importante para la formación y el almacenamiento de la memoria, por lo que este paso parece crítico para el desarrollo de la EA<sup>42</sup>. Los oligómeros también se unen a las subunidades del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) inhibiendo la plasticidad sináptica y alterando la homeostasis del calcio<sup>43,44</sup>, lo cual causa la muerte neuronal. Por lo tanto, elegir como blanco terapéutico las formas de A $\beta$  puede retrasar el proceso de agregación y mitigar la disfunción cognitiva que es el síntoma primario de la enfermedad.

### Enfermedad de Alzheimer esporádica y familiar

Las dos variantes básicas de la EA son la esporádica (EAE) y la familiar (EAF). La EAE esporádica se caracteriza por la ausencia de patrón de herencia y de acuerdo con la edad de

inicio se puede clasificar como de inicio precoz (antes de los 60 años de edad) o de inicio tardío (después de los 60 años de edad). La EAF se caracteriza por una heredabilidad autosómica dominante; representa probablemente menos del 1% de los casos de EA, y tiende a desarrollarse antes de los 60 años de edad (inicio temprano)<sup>45,46</sup>.

En la variante familiar la causa de la enfermedad es una mutación genética en los genes que codifican la proteína precursora amiloide (APP), presenilina-1 (PS1) o presenilina-2 (PS2)<sup>47</sup>. En la actualidad, más de 32 diferentes mutaciones sin sentido se han encontrado en APP. Las mutaciones en APP representan del 10% al 15% de los casos de EAF y la mayoría tienen una edad de inicio de 45 años. Un número importante de las mutaciones se producen en el sitio de escisión de secretasa o en el dominio transmembrana. Ejemplos de ello son las mutaciones "Sueca" (K670N>M671L) y "Londres" (V717I) las cuales están entre las mutaciones más estudiadas de la APP que conducen al aumento de la producción de A $\beta$  y al desarrollo de la EA<sup>46</sup>. Con respecto a PS1, se han identificado más de 180 mutaciones responsables de alrededor del 80% de los casos de EAF. Estas mutaciones causan las formas más severas de EA; tienen una penetrancia completa y un inicio temprano de ~ 45 años<sup>47,48</sup>. Las mutaciones en PS1 parecen aumentar la relación de A $\beta$ <sub>1-42</sub> a A $\beta$ <sub>1-40</sub> como resultado de un aumento de A $\beta$ <sub>1-42</sub> y disminución de la producción de A $\beta$ <sub>1-40</sub><sup>49</sup>. Hasta el momento se han identificado más de 390 familias portadoras de mutaciones PS1. Sin embargo, el grupo más grande del mundo de individuos que llevan una mutación sin sentido en PS1 consiste en alrededor 6.000 miembros de la familia colombiana que lleva la mutación E280A<sup>50,51</sup>. En contraste con la mutación en el gen PS1, las mutaciones sin sentido en PS2 rara vez causan EAF de inicio temprano. La edad de inicio entre los miembros afectados de una familia tiene alta variabilidad<sup>52</sup>. Actualmente se han identificado mutaciones en seis familias<sup>53</sup>, una de ellas da como resultado la sustitución de una valina por una metionina en el residuo 393 (V393M) localizado dentro del séptimo dominio transmembrana<sup>54</sup>.

La comprensión de la patogénesis de la EA ha sido muy influenciada por las cohortes de EAF. Sin embargo, la etiología de la EA es heterogénea y muchos aspectos todavía son desconocidos. La falta de claridad sobre las bases moleculares de la enfermedad y la interacción de múltiples factores (Por ejemplo, genética, epigenética y medio ambiente) explican la complejidad de esta variante de la EA. La falta de herramientas precisas para el diagnóstico precoz, la incertidumbre para evaluar las etapas de la enfermedad y la rigidez del proceso clásico de descubrimiento de fármacos puede haber contribuido al fracaso de las estrategias terapéuticas empleadas durante las dos últimas décadas. Además, los compuestos desarrollados hasta ahora se

**Tabla 1.** Tratamiento farmacológico estándar contra la EA

Medicamento	Compañía de origen	Acción	Estado del paciente con EA	Eficacia
Donezepil	Eisai	AChI	Leve a moderado	Mejora cog., beh., DL
Rivastigmina	Novartis	AChI	Leve a moderado	Mejora cog., beh., DL
Galantamina	Janssen	AChI	Leve a moderado	Mejora cog., beh., DL
Memantina	Allergan	Antagonista MDAR	Moderado a severo	Mejora cog.

AChI: Inhibidor de Acetilcolinesterasa, NMDAR: Receptor de N-Metil-D-aspartato

Cog: Cognición, Beh: Comportamiento, DL: Actividades de la vida diaria

Fuente: <http://www.clinicaltrials.gov>



centran en vías únicas, la mayoría de ellas dirigidas a la cascada amiloide. La evidencia emergente demuestra que otros cambios moleculares (Por ejemplo, la expresión de genes, el metabolismo lipídico, la actividad de Erk y otras quinasas) ocurren en paralelo con la agregación de A $\beta$  y Tau incluso años antes de la aparición de los primeros síntomas<sup>55-57</sup>. La comprensión de estos fenómenos debe ampliarse para tener éxito en la búsqueda de nuevas terapias contra la EA.

### Tratamiento farmacológico estándar contra la EA

Durante las últimas décadas se han hecho muchos esfuerzos para encontrar el tratamiento definitivo para la EA. Las estrategias varían desde alternativas paliativas a estrategias más sofisticadas de modificación de la enfermedad, como la terapia génica y la inmunoterapia. Los tratamientos paliativos incluyen inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa, que disminuyen la descomposición del neurotransmisor acetilcolina. Dentro de este grupo la rivastigmina, la galantamina y el donepezil están actualmente aprobados para su uso en la EA leve a moderada (Tabla 1)<sup>58,59</sup>. Estos medicamentos parecen mejorar temporalmente la cognición, los síntomas conductuales y las tareas de rutina<sup>60</sup>. Sin embargo, los ensayos clínicos han mostrado que un tercio de los individuos tenían beneficios mensurables, un tercio empeoró los síntomas durante los primeros 6 meses y el 29 % interrumpió el tratamiento debido a los efectos adversos<sup>60-62</sup>. Otro fármaco aprobado para el tratamiento paliativo de la EA es la memantina, un antagonista del receptor NMDA, que reduce la neurotoxicidad mediada por estos mejorando así la cognición, el comportamiento y las actividades de la vida diaria (Tabla 1)<sup>63</sup>. Se utiliza para la EA moderada a severo, pero a pesar de los beneficios observados, las altas tasas de abandono y la falta de efecto en la progresión de la enfermedad han limitado los ensayos que evalúan este fármaco<sup>58,59,64</sup>. La eficacia limitada de los fármacos mencionados anteriormente y la necesidad de agentes terapéuticos capaces de modificar el curso de la enfermedad impulsaron la exploración de otros campos de la biomedicina que revolucionan el enfoque farmacológico clásico adoptado hasta ahora.

### Inmunoterapia activa vs inmunoterapia pasiva

Basándose en la teoría amiloide que sitúa A $\beta$  como el primer y principal factor patógeno de la EA, los intentos de disminuir la causa de la neurodegeneración por las especies de A $\beta$  tratan de programar el sistema inmunológico del propio paciente para deshacerse de los péptidos A $\beta$  impidiendo la formación de placas amiloides. A esto se le llama inmunoterapia A $\beta$  activa y utiliza la proteína sintética completa, o un fragmento de esta para estimular la producción de anticuerpos por las células B. Los anticuerpos neutralizan los péptidos A $\beta$  y el complejo se elimina del cerebro. En 2002, la primera vacuna activa anti-EA (AN1792) desarrollada por ELAN en Irlanda y Wyeth en EE.UU pasó por un ensayo clínico de fase IIa. La vacuna contenía el péptido A $\beta$ <sub>1-42</sub> de longitud completa y mostró algunos efectos beneficiosos incluyendo menos declinación cognitiva. Sin embargo, el ensayo se suspendió debido al desarrollo de meningoencefalitis en ~6% de los individuos tratados con la vacuna<sup>65-67</sup>. Una de las explicaciones más plausibles del desarrollo de este proceso inflamatorio es que uno de los excipientes utilizados en la preparación produjo la exposición de la región C-terminal de A $\beta$ <sub>1-42</sub>, que parece activar la respuesta T-ayudador tipo 2<sup>67</sup>. Por esta razón, las nuevas vacunas no incluyen esta región del péptido. Actualmente, se están desarrollando varias

vacunas; estas incluyen CAD106 diseñada por Novartis en Suiza, ACI-24 creada por AC Immune en Suiza y UB-311 hecho por United Neuroscience Ltd en Irlanda. CAD106 contiene el péptido A $\beta$ <sub>1-6</sub> acoplado con un portador con copias del revestimiento proteico del bacteriófago QB para la inducción de la respuesta inmune (Tabla 2). Los ensayos de fase I no mostraron casos clínicos de meningoencefalitis. Sin embargo, durante los ensayos de fase IIa, un paciente presentó hemorragia intracerebral, mientras que cuatro individuos presentaron anomalías en imágenes diagnósticas que estaban relacionadas con A $\beta$ <sup>68,69</sup>. El ACI-24 está hecho con el péptido A $\beta$ <sub>1-15</sub> tetra-palmitoilado que favorece el plegado de las hoja  $\beta$  (Tabla 2). Este diseño es capaz de inducir la producción de anticuerpos específicos de conformación y se formula como membranas de liposomas para provocar la respuesta inmune<sup>70</sup>. Se han iniciado estudios de fase I/IIa y se está a la espera de la publicación de los resultados preliminares (<https://clinicaltrials.gov>; Identificador: NCT02738450). UB-311 consiste en el péptido A $\beta$ <sub>1-14</sub> en combinación con el epítipo de células T ayudador UB1Th<sup>(v)</sup>, que induce específicamente la activación de células Th-1 (Tabla 2). La vacuna se probará en un estudio de fase IIa que evaluará la seguridad y la inmunogenicidad en pacientes con EA leve (<https://clinicaltrials.gov>; Identificador: NCT02551809). Aunque la inmunoterapia activa ha demostrado algunos beneficios para los pacientes con EA y hay grandes expectativas con respecto a los ensayos clínicos en curso, la seguridad y la dificultad para tratar los efectos adversos todavía causan preocupación y constituyen el principal inconveniente de este enfoque terapéutico.

La inmunoterapia pasiva resuelve los problemas de la inmunización activa mediante el uso de anticuerpos monoclonales (mAb), que actúan a través de tres mecanismos que tienen lugar una vez que el anticuerpo ha cruzado la barrera hematoencefálica<sup>71,72</sup>. El primero está mediado por la interacción A $\beta$ -mAb que disminuye la formación de agregados tóxicos. El segundo requiere la unión entre el dominio Fc del mAb y los receptores Fc- $\gamma$  presentes en la microglia que conduce a la fagocitosis del complejo A $\beta$ -mAb. El tercer mecanismo implica la activación del efecto de citotoxicidad dependiente del complemento por el complejo A $\beta$ -mAb que produce la lisis de la célula diana. Existe un cuarto mecanismo de acción en el que el mAb interactúa con A $\beta$  en la sangre periférica y crea un gradiente de concentración que causa el flujo de A $\beta$  desde el cerebro. Algunos mAb contra A $\beta$  que están siendo probados en ensayos clínicos incluyen bapineuzumab, ponezumab, solanezumab, gantenerumab, aducanumab, crenezumab y BAN-2401. Es importante anotar que la mayoría de estos ensayos clínicos utilizan un diseño aleatorizado que implica limitaciones como la falta de heterogeneidad entre los participantes y la dificultad que posee la evaluación cognitiva entre individuos con diferente sexo, edad y nivel educativo entre otros. A pesar de estas falencias, esta metodología es el «gold standard» para los estudios de eficacia del tratamiento y puede ser complementada para superar algunas de las limitaciones mencionadas anteriormente<sup>73</sup>.

Bapineuzumab fue el primer anticuerpo que se probó en ensayos clínicos después de la terminación del estudio clínico AN1792. Consiste en un mAb IgG1 humanizado que se une a la región N-terminal de A $\beta$  (Tabla 2)<sup>74</sup>. El análisis de ensayos clínicos de fase II en pacientes de EA leve a moderada reveló una modesta mejora relacionada con la estabilización de la cantidad de A $\beta$ . Sin embargo, algunos individuos tratados con el anticuerpo sufrieron

**Tabla 2.** Aproximaciones inmunoterapéuticas Activa y Pasiva contra la EA

Inmunoterapia Activa						
Vacuna	Compañía de origen	Blanco	Adyuvante de Formulación	Fase de ensayo clínico	Estado del paciente con EA	Resultado
AN1792	ELAN/Wyeth	Aβ1-42	QS-21, polisorbato 80	IIa-terminado	Leve a moderado	Sin mejoría
CAD106	Novartis	Aβ1-6	Copias revestimiento proteico Bacteriófago QB	III	Prodrómico	NR
ACI-24	AC Immune	tetra-palmitoilado Aβ1-15 (Conformación β)	Liposomas	II	Adultos con síndrome de Down	NR
UB-311	United Neuroscience Ltd	Aβ1-14	CpG/Alum	II	Leve	NR
Inmunoterapia Pasiva						
mAb	Compañía de origen	Antígeno or Epitope /IgG	Especies reconocidas	Fase de ensayo clínico	Estado del paciente con EA	Resultado
Crenezumab	AC Immune/Genentech	Piroglutamato- Aβ1-15 (A)/hIgG4	Oligómeros, fibrillas y placas	II	Leve	Disminuye niveles de Aβ
Bapineuzumab	Janssen/Pfizer	NT Aβ1-5 (E)/hIgG1	Monómeros, fibrillas y placas amiloides	III	Leve a moderado	Estabiliza niveles de Aβ
Ponezumab	Janssen/Pfizer	CT Aβ1-40 (E)/hIgG2a	A(1-40(monómeros, oligómeros y fibrillas	II	Leve a moderado	Disminuye niveles de Aβ
Solanezumab	Eli Lilly	Aβ16-24 (E)/hIgG1	Monómeros(oligómeros y fibrillas	III	Leve	Disminuye niveles de Aβ
Gantenerumab	Roche	NT Aβ1-10 and region central Aβ18-27 (E)/humano IgG1	Monómeros, oligómeros y fibrillas	III	Prodrómico a leve	Disminuye niveles de Aβ
Aducanumab	Biogen	NT Aβ3-6 (E)/humano IgG1	Oligómeros y fibrillas	Ib	Prodrómico a leve	Disminuye niveles de Aβ
BAN-2401	Biogen/Eisai/ BioArctic	Aβ1-42 AM protofibrillas (A)/hIgG1	Protofibrillas	I	Leve	NR

A: Antígeno; E: Epitope; hlgG: Humanizado IgG; NT: Región N-terminal; CT: Región C-terminal; AM: Mutación del Ártico; NR: No reportado

Fuente: <http://www.clinicaltrials.gov>

edema reversible que se considera una anomalía de imagen relacionada con amiloide (ARIA-E)<sup>75,76</sup>. Este evento y la falta de claros beneficios durante la fase III llevaron a la finalización de los ensayos clínicos.

El Ponezumab es un mAb IgG2a humanizado contra el epítotope C-terminal de Aβ, que tiene una unión mucho más fuerte a Aβ<sub>1-40</sub> que a otros monómeros, oligómeros o fibrillas (Tabla 2). Disminuye la carga amiloide a través de la salida de Aβ desde el hipocampo inducido por la reducción del péptido en el plasma<sup>77</sup>. Los resultados de los ensayos clínicos no evidenciaron una mejoría significativa en el deterioro cognitivo de los pacientes con EA leve a moderada<sup>78,79</sup> y actualmente se está probando para el tratamiento de la angiopatía amiloide cerebral (CAA) (<https://clinicaltrials.gov>; Identificador: NCT01821118).

Solanezumab es la versión humanizada del mAb m266 IgG1 que se une a la región central de Aβ y tiene más afinidad por los monómeros que por las especies solubles y tóxicas en pacientes con EA leve (Tabla 2)<sup>80</sup>. En un primer momento, los resultados de los ensayos clínicos de fase III no demostraron mejoras significativas en los individuos tratados con el anticuerpo<sup>81</sup>. Un análisis complementario de los datos reveló menos deterioro cognitivo y funcional en pacientes con EA<sup>82</sup>. El anticuerpo ha sido bien tolerado, pero se han observado ARIA-E en 16 individuos incluidos en ensayos doble ciego (EXPEDITION y EXPEDITION 2) y en un ensayo abierto de extensión (EXPEDITION-EXT)<sup>83</sup>. Además, la magnitud de los beneficios está en el mismo nivel de los inhibidores de la acetilcolinesterasa (<https://clinicaltrials.gov>; Identificador: NCT02760602 y NCT02008357). El 23 de noviembre de 2016, Eli Lilly anunció que abandonaría los ensayos clínicos sobre el fármaco debido a que los resultados del estudio EXPEDITION3 demostraron que el solanezumab no fue capaz de frenar el deterioro cognitivo en pacientes con EA en comparación con los que recibieron placebo. Una explicación plausible del fracaso es que el anticuerpo podría quedar atrapado en la sangre y no alcanzar concentraciones terapéuticas en el cerebro<sup>84</sup>.

Gantenerumab fue el primer mAb completamente humano diseñado para unirse con afinidad subnanomolar a un epítotope conformacional en las fibrillas Aβ. Abarca aminoácidos

N-terminales y centrales de Aβ y se une a monómeros, oligómeros y fibrillas en individuos con EA prodrómica a leve (Tabla 2)<sup>85</sup>. El anticuerpo reduce la carga amiloide y activa la microglia evitando la formación de placas<sup>85</sup>. Durante los ensayos clínicos de fase I, el anticuerpo fue seguro y bien tolerado; Sin embargo, algunos pacientes tratados con dosis altas desarrollaron ARIA transitoria<sup>86</sup>. Los estudios de fase II indicaron que no hubo eficacia en la cohorte evaluada, pero el análisis post-hoc mostró un ligero beneficio en pacientes con progresión rápida. En este momento están en curso ensayos clínicos de fase III, estos incluyen un estudio para evaluar el efecto del anticuerpo sobre la seguridad, farmacocinética, cognición y funcionamiento en individuos con EA prodrómica (<https://clinicaltrials.gov>; Identificador: NCT01224106). Un ensayo para probar la eficacia y la seguridad del gantenerumab en pacientes con EA leve (<https://clinicaltrials.gov>; Identificador: NCT02051608); y un estudio de fase II/III para determinar si el anticuerpo mejora el resultado cognitivo de los participantes con EA (<https://clinicaltrials.gov>; Identificador: NCT01760005).

El aducanumab es un mAb IgG1 humano desarrollado a partir de una librería de células B creada a partir de individuos sanos de edad avanzada<sup>87</sup>. El anticuerpo interactúa con la región N-terminal de Aβ y se une a oligómeros y fibrillas de sujetos con EA prodrómica a leve (Tabla 2)<sup>87,88</sup>. El ensayo clínico de fase Ib mostró una mejoría de la disminución cognitiva, pero causó ARIA en pacientes con dosis altas de tratamiento. Las limitaciones de este estudio incluyeron tamaños de muestra pequeños, el uso del diseño escalonado de la dosis secuencial y careció de potencia debido puntos finales clínicos exploratorios. El ensayo demostró ser seguro y eficaz en el aclaramiento amiloide, pero los efectos positivos de la cognición fueron menos claros<sup>87</sup>. Con base en el análisis interno de datos y los resultados prometedores, se decidió iniciar dos estudios de fase III establecidos para evaluar la eficacia del aducanumab en la disminución del deterioro cognitivo y funcional en los participantes con EA temprana. Los ensayos se extenderán hasta el año 2022, en 150 centros en América del Norte, Europa, Australia y Asia (<https://clinicaltrials.gov>; Identificador: NCT02477800 y NCT02484547). La expectativa por los resultados de estos ensayos es grande porque pueden poner a prueba la hipótesis amiloide.

El crenezumab, también conocido como MABT, es un anticuerpo humanizado dirigido contra la región media de A $\beta$  que usa un isotipo IgG4 para reducir el riesgo de sobre-activación microglial. Reconoce monómeros, oligómeros y fibrillas A $\beta$ , aunque tiene menos afinidad por los primeros (Tabla 2)<sup>70,89</sup>. En la actualidad, la «Alzheimer's Prevention Initiative» (API) está reclutando a 300 individuos colombianos, 200 que portan la mutación E280A en PS1 y 100 no portadores<sup>90</sup>. El propósito del estudio es evaluar la seguridad y la eficacia del anticuerpo en una fase preclínica de la EA (<https://clinicaltrials.gov>; Identificador: NCT01998841).

BAN-2401 es un mAb humanizado dirigido contra la APP que lleva la mutación E22G en A $\beta$  (mutación del Ártico)<sup>91</sup>. El anticuerpo es capaz de reconocer una conformación específica en las protofibrillas A $\beta$  (Tabla 2)<sup>91</sup>. El ensayo clínico de fase I demostró que el anticuerpo era seguro y no se observaron eventos adversos graves<sup>92</sup>. Un estudio de fase II está actualmente reclutando a los participantes para determinar la eficacia clínica de BAN-2401 en el deterioro cognitivo leve y EA leve (<https://clinicaltrials.gov>; Identificador: NCT01767311).

## Conclusiones

La inmunoterapia trabaja junto con el sistema inmune humano para neutralizar el proceso de agregación de las especies de A $\beta$ . Actualmente puede ser el mejor enfoque para modificar la neurodegeneración y el deterioro cognitivo presente en la EA. No obstante, más estudios son necesarios para encontrar vacunas con mayor especificidad que no induzcan la respuesta autoinmune. Respecto a la inmunización pasiva, es necesario mejorar la eficiencia de los mAb para cruzar la barrera hematoencefálica, así como la reactividad cruzada y las alteraciones inflamatorias observadas en algunos pacientes. También es conveniente contemplar el uso de compuestos no inmunogénicos tales como aptámeros de ADN o ARN, que son pequeños fragmentos de oligonucleótidos con fuerte afinidad por diversos objetivos que van desde moléculas pequeñas a células y pueden superar los problemas observados con la inmunización<sup>93</sup>.

### Agradecimientos:

B-O agradece a la Universidad Icesi por la financiación del proyecto interno No. CA041341. FL agradece al programa de Sostenibilidad del CODI Universidad de Antioquia

### Conflicto de intereses:

Los autores no declaran ningún interés comercial que pueda representar un conflicto de intereses

## Referencias

1. Ali G-C, Guerchet M, Wu Y-T, Prince M, Prina M. Chapter 2: The global prevalence of dementia. In: Prince M, Wimo A, Guerchet M, Ali G-C, Wu Y-T, Prina M, editors. World Alzheimer Report 2015. The Global Impact of Dementia. An analysis of prevalence, incidence, cost and trends. Alzheimer's Disease International (ADI); London: 2015. pp. 10–29.
2. Alzheimer's Association. Special Report: The personal financial impact of Alzheimer's on families. In: Alzheimer's Association, editor. 2016 Alzheimer's Disease Facts and Figures. Chicago: Alzheimer's Association; 2016. pp. 58–67. [https://www.alz.org/documents\\_custom/2016-facts-and-figures.pdf](https://www.alz.org/documents_custom/2016-facts-and-figures.pdf).

3. WHO The Epidemiology and Impact of Dementia: Current state and future trends. 2015:4–4. [http://www.who.int/mental\\_health/neurology/dementia/dementia\\_thematicbrief\\_epidemiology.pdf](http://www.who.int/mental_health/neurology/dementia/dementia_thematicbrief_epidemiology.pdf).
4. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Kawas CH. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011; 7(3): 263–9.
5. van der Flier WM, Pijnenburg YA, Fox NC, Scheltens P. Early-onset versus late-onset Alzheimer's disease the case of the missing APOE  $\epsilon$ 4 allele. *Lancet Neurol*. 2011; 10(3): 280–8.
6. Lautenschlager NT, Cupples LA, Rao VS, Auerbach SA, Becker R, Burke J. Risk of dementia among relatives of Alzheimer's disease patients in the MIRAGE study What is in store for the oldest old? *Neurology*. 1996; 46(3): 641–50.
7. Coon KD, Myers AJ, Craig DW, Webster JA, Pearson JV, Lince DH. A high-density whole-genome association study reveals that APOE is the major susceptibility gene for sporadic late-onset Alzheimer's disease. *J Clin Psychiatry*. 2007; 68(4): 613–8.
8. Scarabino D, Broggio E, Gambina G, Maida C, Gaudio MR, Corbo RM. Apolipoprotein E genotypes and plasma levels in mild cognitive impairment conversion to Alzheimer's disease A follow-up study. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2016; 171(8): 1131–8.
9. Kivipelto M, Ngandu T, Fratiglioni L, Viitanen M, Kåreholt I, Winblad B. Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2005; 62(10): 1556–60.
10. Li W, Risacher SL, McAllister TW, Saykin AJ. Traumatic brain injury and age at onset of cognitive impairment in older adults. *J Neurol*. 2016; 263(7): 1280–5.
11. Killin LO, Starr JM, Shiue IJ, Russ TC. Environmental risk factors for dementia a systematic review. *BMC Geriatr*. 2016; 16(1): 175.
12. Villemagne VL, Pike KE, Chételat G, Ellis KA, Mulligan RS, Bourgeat P. Longitudinal assessment of A $\beta$  and cognition in aging and Alzheimer disease. *Ann Neurol*. 2011; 69(1): 181–192.
13. Saint-Aubert L, Almkvist O, Chiotis K, Almeida R, Wall A, Nordberg A. Regional tau deposition measured by [(18)F]THK5317 positron emission tomography is associated to cognition via glucose metabolism in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2016; 8(1): 38.
14. James OG, Doraiswamy PM, Borges-Neto S. PET Imaging of Tau Pathology in Alzheimer's Disease and Tauopathies. *Front Neurol*. 2015; 6: 38.
15. Perl DP. Neuropathology of Alzheimer's disease. *Mt Sinai J Med*. 2010; 77(1): 32–42.
16. Selkoe DJ, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol Med*. 2016; 8(6): 595–608.
17. Wilcock GK, Esiri MM. Plaques, tangles and dementia A quantitative study. *J Neurol Sci*. 1982; 56(2-3): 343–56.



18. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* 1991; 82(4): 239–59.
19. Lambert MP, Barlow AK, Chromy BA, Edwards C, Freed R, Liosatos M. Diffusible, nonfibrillar ligands derived from A $\beta$ 1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95(11): 6448–53.
20. Haass C, Selkoe DJ. Soluble protein oligomers in neurodegeneration lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007; 8(2): 101–12.
21. Walsh DM, Selkoe DJ. A beta oligomers- a decade of discovery. *J Neurochem.* 2007; 101(5): 1172–84.
22. Thal DR, Rüb U, Orantes M, Braak H. Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology.* 2002; 58(12): 1791–800.
23. Buckner RL, Snyder AZ, Shannon BJ, LaRossa G, Sachs R, Fotenos AF. Molecular, structural, and functional characterization of Alzheimer's disease evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory. *J Neurosci.* 2005; 25(34): 7709–17.
24. Braak H, Del Tredici K. The pathological process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. *Acta Neuropathol.* 2011; 121(2): 171–81.
25. Selkoe DJ. Toward a comprehensive theory for Alzheimer's disease Hypothesis: Alzheimer's disease is caused by the cerebral accumulation and cytotoxicity of amyloid beta-protein. *Ann N Y Acad Sci.* 2000; 924: 17–25.
26. Zhang H, Ma Q, Zhang YW, Xu H. Proteolytic processing of Alzheimer's  $\beta$ -amyloid precursor protein. *J Neurochem.* 2012; 120(1): 9–21.
27. Lee J, Retamal C, Cuitiño L, Caruano-Yzermans A, Shin JE, van Kerkhof P. Adaptor protein sorting nexin 17 regulates amyloid precursor protein trafficking and processing in the early endosomes. *J Biol Chem.* 2008; 283(17): 11501–8.
28. Koo EH, Sisodia SS, Archer DR, Martin LJ, Weidemann A, Beyreuther K. Precursor of amyloid protein in Alzheimer disease undergoes fast anterograde axonal transport. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990; 87(4): 1561–5.
29. Ehehalt R, Keller P, Haass C, Thiele C, Simons K. Amyloidogenic processing of the Alzheimer beta-amyloid precursor protein depends on lipid rafts. *J Cell Biol.* 2003; 160(1): 113–23.
30. Thinakaran G, Koo EH. Amyloid precursor protein trafficking, processing, and function. *J Biol Chem.* 2008; 283(44): 29615–9.
31. Fahrenholz F, Gilbert S, Kojro E, Lammich S, Postina R. Alpha-secretase activity of the disintegrin metalloprotease ADAM 10 Influences of domain structure. *Ann N Y Acad Sci.* 2000; 920: 215–22.
32. Asai M, Hattori C, Szabó B, Sasagawa N, Maruyama K, Tanuma S. Putative function of ADAM9, ADAM10, and ADAM17 as APP alpha-secretase. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 301(1): 231–5.
33. Esch FS, Keim PS, Beattie EC, Blacher RW, Culwell AR, Oltersdorf T. Cleavage of amyloid beta peptide during constitutive processing of its precursor. *Science.* 1990; 248(4959): 1122–4.
34. Zhang YW, Thompson R, Zhang H, Xu H. APP processing in Alzheimer's disease. *Mol Brain.* 2011; 4: 3.
35. Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, Kahn S, Mendiaz EA, Denis P. Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science.* 1999; 286(5440): 735–41.
36. Selkoe DJ, Wolfe MS. Presenilin running with scissors in the membrane. *Cell.* 2007; 131(2): 215–21.
37. St George-Hyslop P, Fraser PE. Assembly of the presenilin  $\gamma$ -secretase complex. *J Neurochem.* 2012; 120(1): 84–8.
38. Mori H, Takio K, Ogawara M, Selkoe DJ. Mass spectrometry of purified amyloid beta protein in Alzheimer's disease. *J Biol Chem.* 1992; 267(24): 17082–6.
39. Serra-Batiste M, Ninot-Pedrosa M, Bayoumi M, Gairí M, Maglia G, Carulla N. A $\beta$ 42 assembles into specific  $\beta$ -barrel pore-forming oligomers in membrane-mimicking environments. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016; 113(39): 10866–71.
40. Walsh DM, Hartley DM, Kusumoto Y, Fezoui Y, Condron MM, Lomakin A. Amyloid beta-protein fibrillogenesis Structure and biological activity of protofibrillar intermediates. *J Biol Chem.* 1999; 274(36): 25945–52.
41. Harper JD, Wong SS, Lieber CM, Lansbury PT. Assembly of A beta amyloid protofibrils an in vitro model for a possible early event in Alzheimer's disease. *Biochemistry.* 1999; 38(28): 8972–8980.
42. Kuperstein I, Broersen K, Benilova I, Rozenski J, Jonckheere W, Debulpaep M. Neurotoxicity of Alzheimer's disease A $\beta$  peptides is induced by small changes in the A $\beta$ 42 to A $\beta$ 40 ratio. *EMBO J.* 2010; 29(19): 3408–20.
43. Li S, Jin M, Koeglsperger T, Shepardson NE, Shankar GM, Selkoe DJ. Soluble A $\beta$  oligomers inhibit long-term potentiation through a mechanism involving excessive activation of extrasynaptic NR2B-containing NMDA receptors. *J Neurosci.* 2011; 31(18): 6627–38.
44. Yang TT, Hsu CT, Kuo YM. Cell-derived soluble oligomers of human amyloid-beta peptides disturb cellular homeostasis and induce apoptosis in primary hippocampal neurons. *J Neural Transm (Vienna)* 2009; 116(12): 1561–9.
45. Bertram L, Tanzi RE. Alzheimer's disease: one disorder, too many genes? *Hum Mol Genet.* 2004; 13(Spec No 1): R135–41.
46. Goate A, Hardy J. Twenty years of Alzheimer's disease-causing mutations. *J Neurochem.* 2012; 120(1): 3–8.
47. Cruchaga C, Haller G, Chakraverty S, Mayo K, Vallania FL, Mitra RD. Rare variants in APP, PSEN1 and PSEN2 increase risk for AD in late-onset Alzheimer's disease families. *PLoS One.* 2012; 7(2): e31039.



48. Larner AJ, Doran M. Clinical phenotypic heterogeneity of Alzheimer's disease associated with mutations of the presenilin-1 gene. *J Neurol*. 2006; 253(2): 139–58.
49. Citron M, Westaway D, Xia W, Carlson G, Diehl T, Levesque G. Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid beta-protein in both transfected cells and transgenic mice. *Nat Med*. 1997; 3(1): 67–72.
50. Lopera F, Ardilla A, Martínez A, Madrigal L, Arango-Viana JC, Lemere CA. Clinical features of early-onset Alzheimer disease in a large kindred with an E280A presenilin-1 mutation. *JAMA*. 1997; 277(10): 793–9.
51. Acosta-Baena N, Sepulveda-Falla D, Lopera-Gómez CM, Jaramillo-Elorza MC, Moreno S, Aguirre-Acevedo DC. Pre-dementia clinical stages in presenilin 1 E280A familial early-onset Alzheimer's disease a retrospective cohort study. *Lancet Neurol*. 2011; 10(3): 213–20.
52. Sherrington R, Froelich S, Sorbi S, Campion D, Chi H, Rogaeva EA. Alzheimer's disease associated with mutations in presenilin 2 is rare and variably penetrant. *Hum Mol Genet*. 1996; 5(7): 985–8.
53. Jayadev S, Leverenz JB, Steinbart E, Stahl J, Klunk W, Yu CE. Alzheimer's disease phenotypes and genotypes associated with mutations in presenilin 2. *Brain*. 2010; 133(4): 1143–54.
54. Lindquist SG, Hasholt L, Bahl JM, Heegaard NH, Andersen BB, Nørremølle A. A novel presenilin 2 mutation (V393M) in early-onset dementia with profound language impairment. *Eur J Neurol*. 2008; 15(10): 1135–9.
55. Vélez JI, Lopera F, Patel HR, Johar AS, Cai Y, Rivera D. Mutations modifying sporadic Alzheimer's disease age of onset. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2016; 171(8): 1116–30.
56. Mapstone M, Cheema AK, Fiandaca MS, Zhong X, Mhyre TR, MacArthur LH. Plasma phospholipids identify antecedent memory impairment in older adults. *Nat Med*. 2014; 20(4): 415–8.
57. Lachén-Montes M, González-Morales A, de Morentin XM, Pérez-Valderrama E, Ausín K, Zelaya MV. An early dysregulation of FAK and MEK/ERK signaling pathways precedes the  $\beta$ -amyloid deposition in the olfactory bulb of APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease. *J Proteomics*. 2016; 148: 149–58.
58. Sorbi S, Hort J, Erkinjuntti T, Fladby T, Gainotti G, Gurvit H. EFNS-ENS Guidelines on the diagnosis and management of disorders associated with dementia. *Eur J Neurol*. 2012; 19(9): 1159–79.
59. Ihl R, Bunevicius R, Frölich L, Winblad B, Schneider LS, Dubois B. World Federation of Societies of Biological Psychiatry guidelines for the pharmacological treatment of dementias in primary care. *Int J Psychiatry Clin Pract*. 2015; 19(1): 2–7.
60. Raina P, Santaguida P, Ismaila A, Patterson C, Cowan D, Levine M. Effectiveness of cholinesterase inhibitors and memantine for treating dementia evidence review for a clinical practice guideline. *Ann Intern Med*. 2008; 148(5): 379–97.
61. Cummings JL, Isaacson RS, Schmitt FA, Velting DM. A practical algorithm for managing Alzheimer's disease what, when, and why? *Ann Clin Transl Neurol*. 2015; 2(3): 307–23.
62. Birks J. Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006; (1): CD005593.
63. McShane R, Areosa Sastre A, Minakaran N. Memantine for dementia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006; (2): CD003154.
64. Dysken MW, Sano M, Asthana S, Vertrees JE, Pallaki M, Llorente M. Effect of vitamin E and memantine on functional decline in Alzheimer disease the TEAM-AD VA cooperative randomized trial. *JAMA*. 2014; 311(1): 33–44.
65. Orgogozo JM, Gilman S, Dartigues JF, Laurent B, Puel M, Kirby LC. Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after Abeta42 immunization. *Neurology*. 2003; 61(1): 46–54.
66. Bayer AJ, Bullock R, Jones RW, Wilkinson D, Paterson KR, Jenkins L. Evaluation of the safety and immunogenicity of synthetic Abeta42 (AN1792) in patients with AD. *Neurology*. 2005; 64(1): 94–101.
67. Gilman S, Koller M, Black RS, Jenkins L, Griffith SG, Fox NC. Clinical effects of Abeta immunization (AN1792) in patients with AD in an interrupted trial. *Neurology*. 2005; 64(9): 1553–62.
68. Winblad B, Andreasen N, Minthon L, Floesser A, Imbert G, Dumortier T. Safety, tolerability, and antibody response of active A $\beta$  immunotherapy with CAD106 in patients with Alzheimer's disease randomised, double-blind, placebo-controlled, first-in-human study. *Lancet Neurol*. 2012; 11(7): 597–604.
69. Farlow MR, Andreasen N, Riviere ME, Vostiar I, Vitaliti A, Sovago J. Long-term treatment with active A $\beta$  immunotherapy with CAD106 in mild Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2015; 7(1): 23.
70. Muhs A, Hickman DT, Pihlgren M, Chuard N, Giriens V, Meerschman C. Liposomal vaccines with conformation-specific amyloid peptide antigens define immune response and efficacy in APP transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; 104(23): 9810–5.
71. Morrone CD, Liu M, Black SE, McLaurin J. Interaction between therapeutic interventions for Alzheimer's disease and physiological A $\beta$  clearance mechanisms. *Front Aging Neurosci*. 2015; 7: 64.
72. Lichtlen P, Mohajeri MH. Antibody-based approaches in Alzheimer's research safety, pharmacokinetics, metabolism, and analytical tools. *J Neurochem*. 2008; 104(4): 859–74.
73. Booth CM, Tannock IF. Randomised controlled trials and population-based observational research partners in the evolution of medical evidence. *Br J Cancer*. 2014; 110(3): 551–5.
74. Johnson-Wood K, Lee M, Motter R, Hu K, Gordon G, Barbour R. Amyloid precursor protein processing and A beta42 deposition in a transgenic mouse model of Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 94(4): 1550–5.

75. Salloway S, Sperling R, Gilman S, Fox NC, Blennow K, Raskind M. A phase 2 multiple ascending dose trial of bapineuzumab in mild to moderate Alzheimer disease. *Neurology*. 2009; 73(24): 2061–70.
76. Rinne JO, Brooks DJ, Rossor MN, Fox NC, Bullock R, Klunk WE. 11C-PiB PET assessment of change in fibrillar amyloid-beta load in patients with Alzheimer's disease treated with bapineuzumab a phase 2, double-blind, placebo-controlled, ascending-dose study. *Lancet Neurol*. 2010; 9(4): 363–72.
77. La Porte SL, Bollini SS, Lanz TA, Abdiche YN, Rusnak AS, Ho WH. Structural basis of C-terminal  $\beta$ -amyloid peptide binding by the antibody ponzemab for the treatment of Alzheimer's disease. *J Mol Biol*. 2012; 421(4-5): 525–36.
78. Landen JW, Zhao Q, Cohen S, Borrie M, Woodward M, Billing CB. Safety and pharmacology of a single intravenous dose of ponzemab in subjects with mild-to-moderate Alzheimer disease a phase I, randomized, placebo-controlled, double-blind, dose-escalation study. *Clin Neuropharmacol*. 2013; 36(1): 14–23.
79. Miyoshi I, Fujimoto Y, Yamada M, Abe S, Zhao Q, Cronenberger C. Safety and pharmacokinetics of PF-04360365 following a single-dose intravenous infusion in Japanese subjects with mild-to-moderate Alzheimer's disease a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2013; 51(12): 911–23.
80. DeMattos RB, Bales KR, Cummins DJ, Dodart JC, Paul SM, Holtzman DM. Peripheral anti-A beta antibody alters CNS and plasma A beta clearance and decreases brain A beta burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(15): 8850–5.
81. Doody RS, Thomas RG, Farlow M, Iwatsubo T, Vellas B, Joffe S. Phase 3 trials of solanezumab for mild-to-moderate Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2014; 370(4): 311–21.
82. Siemers ER, Sundell KL, Carlson C, Case M, Sethuraman G, Liu-Seifert H. Phase 3 solanezumab trials Secondary outcomes in mild Alzheimer's disease patients. *Alzheimers Dement*. 2016; 12(2): 110–20.
83. Carlson C, Siemers E, Hake A, Case M, Hayduk R, Suhy J. Amyloid-related imaging abnormalities from trials of solanezumab for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (Amst)* 2016; 2: 75–85.
84. Abbott A, Dolgin E. Failed Alzheimer's trial does not kill leading theory of disease. *Nature*. 2016; 540(7631): 15–6.
85. Bohrmann B, Baumann K, Benz J, Gerber F, Huber W, Knoflach F. Gantenerumab a novel human anti-A $\beta$  antibody demonstrates sustained cerebral amyloid- $\beta$  binding and elicits cell-mediated removal of human amyloid- $\beta$ . *J Alzheimers Dis*. 2012; 28(1): 49–69.
86. Ostrowitzki S, Deptula D, Thurfjell L, Barkhof F, Bohrmann B, Brooks DJ. Mechanism of amyloid removal in patients with Alzheimer disease treated with gantenerumab. *Arch Neurol*. 2012; 69(2): 198–207.
87. Sevigny J, Chiao P, Bussière T, Weinreb PH, Williams L, Maier M. The antibody aducanumab reduces A $\beta$  plaques in Alzheimer's disease. *Nature*. 2016; 537(7618): 50–6.
88. Kastanenka KV, Bussiere T, Shakerdge N, Qian F, Weinreb PH, Rhodes K, *et al*. Immunotherapy with aducanumab restores calcium homeostasis in Tg2576 mice. *J Neurosci*. 2016; 36(50): 12549–58.
89. Adolfsson O, Pihlgren M, Toni N, Varisco Y, Buccarello AL, Antonello K. An effector-reduced anti- $\beta$ -amyloid (A $\beta$ ) antibody with unique a $\beta$  binding properties promotes neuroprotection and glial engulfment of A $\beta$ . *J Neurosci*. 2012; 32(28): 9677–89.
90. Ayutyanont N, Langbaum JB, Hendrix SB, Chen K, Fleisher AS, Friesenhahn M. The Alzheimer's prevention initiative composite cognitive test score sample size estimates for the evaluation of preclinical Alzheimer's disease treatments in presenilin 1 E280A mutation carriers. *J Clin Psychiatry*. 2014; 75(6): 652–60.
91. Tucker S, Möller C, Tegerstedt K, Lord A, Laudon H, Sjö Dahl J. The murine version of BAN2401 (mAb158) selectively reduces amyloid- $\beta$  protofibrils in brain and cerebrospinal fluid of tg-ArcSwe mice. *J Alzheimers Dis*. 2015; 43(2): 575–88.
92. Logovinsky V, Satlin A, Lai R, Swanson C, Kaplow J, Osswald G. Safety and tolerability of BAN2401--a clinical study in Alzheimer's disease with a protofibril selective A $\beta$  antibody. *Alzheimers Res Ther*. 2016; 8(1): 14.
93. Qu J, Yu S, Zheng Y, Yang H, Zhang J. Aptamer and its applications in neurodegenerative diseases. *Cell Mol Life Sci*. 2016