

# Estado actual de las terapias modificadoras en enfermedad de Alzheimer

## *Current status of modifying therapies in Alzheimer's disease*

Carrillo-Mora Paul,\* Mena-Barranco Francisco J,\*\* Navarrete-Báez Hugo\*\*\*

\* Departamento de Neurorrehabilitación. Instituto Nacional de Rehabilitación. Grupo de Estudio de Demencias, Academia Mexicana de Neurología.

\*\* Servicio de Neurología. Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca. Grupo de Estudio de Demencias, Academia Mexicana de Neurología.

\*\*\* Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Baja California. Grupo de Estudio de Demencias, Academia Mexicana de Neurología.

### RESUMEN

Todas las estimaciones epidemiológicas a nivel mundial coinciden en que en las próximas décadas se espera un incremento importante en los casos de enfermedad de Alzheimer (EA). Por este motivo, a nivel mundial hay un impulso sin precedentes en la investigación tanto básica como clínica sobre nuevas alternativas terapéuticas para la EA que no sólo posean un efecto sintomático, sino que realmente logren modificar significativamente el curso de la enfermedad (terapias modificadoras). Actualmente una impresionante variedad de blancos terapéuticos están siendo explorados (algunos de ellos incluso ya en el ámbito clínico), todos ellos basados en la modificación de alguno de los factores fisiopatológicos implicados en la EA: inhibidores y moduladores de gamma secretasa, activadores de alfa secretasa, inmunoterapia activa y pasiva contra A $\beta$  y tau, inhibidores de la agregación de A $\beta$  y tau, inhibidores de la fosforilación de tau, antioxidantes, anti-inflamatorios, estatinas, terapia génica, etc. En el presente artículo se realiza una revisión acerca del estado actual que guardan las terapias modificadoras de la enfermedad en EA según su blanco terapéutico. Lamentablemente los resultados de la gran mayoría de los estudios clínicos han arrojado resultados negativos por dos principales causas: la severidad de los efectos colaterales y la falta de eficacia significativa o ambas. En este momento se están desarrollando fármacos que a nivel experimental han demostrado efectos prometedores pero faltará ver sus efectos clínicos y su seguridad a largo plazo.

**Palabras clave:** Alzheimer, inhibidores de gamma secretasa, inmunoterapia, México, terapias modificadoras de la enfermedad.

### ABSTRACT

All epidemiological estimates worldwide agree that in the coming decades it is expected a significant increase in Alzheimer's disease (AD) cases. For this reason, there are globally unprecedented research efforts in both basic and clinical scope in the development of new therapies for AD that possess not only a symptomatic effect but actually modify significantly the course of disease (disease modifying treatments). Currently an amazing variety of therapeutic targets are being explored (some of them even already in clinical field), all based on the modification of one of the pathophysiological factors involved in AD: inhibitors and modulators of gamma secretase, alpha secretase activators, active and passive immunotherapy against A $\beta$  and tau, aggregation inhibitors of A $\beta$  and tau, phosphorylation tau inhibitors, antioxidants, anti-inflammatory, statins, gene therapy, and other factors. In this article we review the current status about the disease-modifying therapies in AD by therapeutic target. Unfortunately, current results of the vast majority of clinical studies have been negative for two main reasons: the severity of side effects and the lack of significant efficacy or both. Currently developing drugs in experimental studies have shown very promising effects but we should wait to see their clinical effects and long-term safety.

**Key words:** Alzheimer's disease, disease modifying treatments, gamma secretase inhibitors, Mexico, immunotherapy.

### INTRODUCCIÓN

Es un hecho irrefutable que la población mundial está envejeciendo, los adelantos en la medicina, entre otros factores, han conducido al incremento paulatino en la expectativa de vida y la longevidad de la población. Este fenómeno en todo el mundo ha sido visto como un triunfo sanitario, sin embargo, el aumento de la longevidad también ha

traído como consecuencia un incremento en la incidencia de una gran variedad de enfermedades en las que la edad es uno de los factores predisponentes más importantes, por ejemplo, las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y diversas enfermedades neurodegenerativas.<sup>1</sup> En este sentido la enfermedad de Alzheimer (EA) es la causa más frecuente de deterioro cognitivo a nivel mundial y está bien establecido que el riesgo de padecerla se incrementa exponencialmente con la edad.<sup>2</sup>

**Correspondencia:** Dr. en C. Paul Carrillo-Mora.

Calz. México-Xochimilco 289, C.P. 14389. México, D.F. Correo electrónico: neuropolaco@yahoo.com.mx

**Artículo recibido:** Diciembre 17, 2012.

**Artículo aceptado:** Enero 22, 2013.

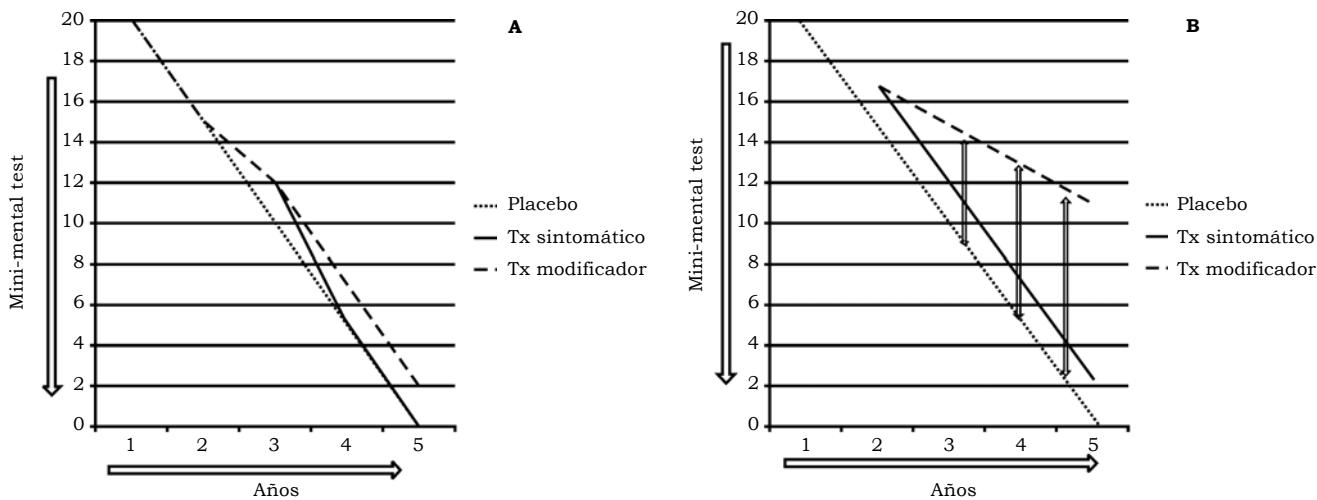
En la actualidad se estima que más de 24.2 millones de personas en todo el mundo padecen demencia y que hay 4.6 millones de casos nuevos cada año. Las proyecciones al respecto estiman que la incidencia de la enfermedad se duplicará cada 20 años y que para el año 2040 hasta 70% de los pacientes con demencia se encontrará en los países en vías de desarrollo.<sup>3</sup> En México carecemos de estadísticas precisas y sistemáticas acerca de la frecuencia de demencia, pero algunos esfuerzos recientes señalan una incidencia de entre 3.3 y 16% de pacientes con demencia en la población mayor de 65 años.<sup>4-6</sup> Paralelamente, la estimación futura de un incremento significativo en los casos de EA ha desencadenado un esfuerzo mundial en la búsqueda de alternativas terapéuticas más eficaces para el manejo de la enfermedad. Hasta el momento los tratamientos disponibles para el manejo de la EA se consideran sólo sintomáticos debido a que no se ha demostrado que modifiquen significativamente el curso de la enfermedad. Por lo tanto, conocer el estado actual de los tratamientos modificadores que se encuentran en estudio y desarrollo en EA resulta de gran importancia para el personal de salud que atiende este grupo de pacientes, por lo que realizar una revisión actualizada de estas terapias será el objetivo del presente artículo.

#### Definición de tratamiento modificador de la enfermedad

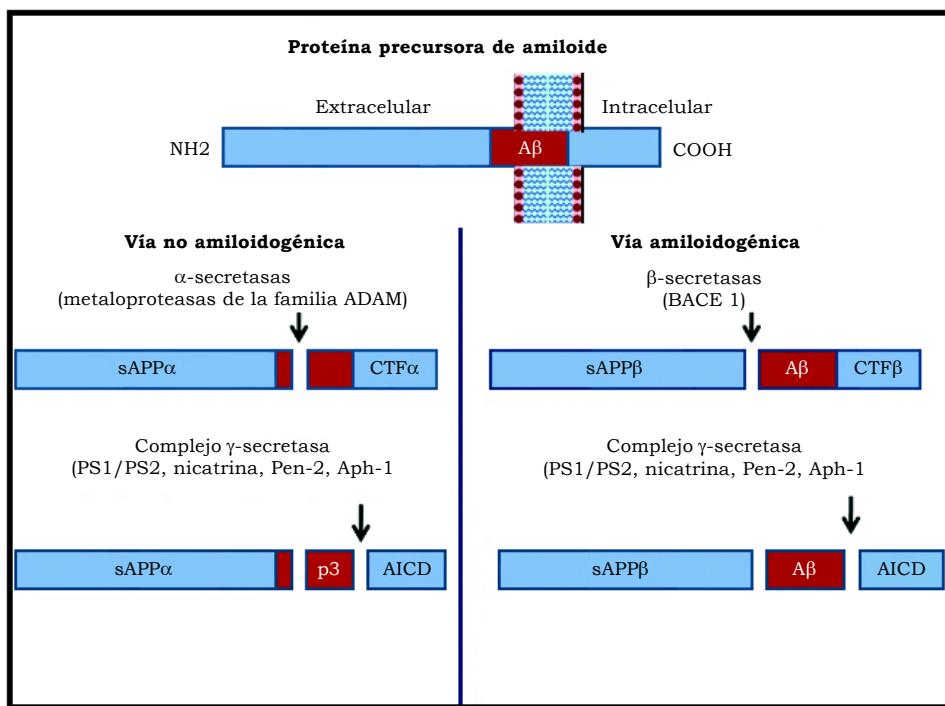
Definir adecuadamente lo que significa un tratamiento modificador de la enfermedad no resulta sencillo, ya que en la literatura se han propuesto varias definiciones. Por un lado, un grupo de ellas basadas principalmente en aspectos clínicos (retraso en la progresión de la enfermedad), y otras basadas en aspectos fisiopatológicos de la enfermedad (modificación de biomarcadores patológicos).<sup>7</sup> Considerar ambos aspectos por separado conlleva importante limitaciones, por ejemplo, considerar sólo el retraso en la progresión de la enfermedad puede resultar incorrecto debido a que en algunos estudios los tratamientos sintomáticos (anticolinesterásicos)

han demostrado retrasar el deterioro en algunos aspectos de la enfermedad aunque la evolución continúa con una pendiente paralela a los no tratados. Por otra parte, el considerar sólo la reducción o modificación de un biomarcador de la enfermedad (atrofia hipocampal, niveles de proteína tau o A $\beta$  en el líquido cefalorraquídeo, etc.) sin considerar cuáles con los efectos clínicos de esta modificación resulta también un error evidente. Una definición más incluyente podría ser: *cualquier tratamiento farmacológico o intervención terapéutica que impacte la patología subyacente de la EA respecto a la muerte neuronal y produzca un efecto medible y significativo sobre el curso clínico de la enfermedad*.<sup>8</sup>

En investigación clínica existen dos tipos de diseños experimentales que permiten establecer el efecto modificador de la enfermedad de los tratamientos: el *ensayo clínico con retiro escalonado* y el *ensayo clínico con inicio retrasado*. En el ensayo clínico con *retiro escalonado* se forman dos grupos que reciben en la fase inicial el mismo tratamiento y después de observar una respuesta positiva se retira el tratamiento en uno de los grupos y se observa la evolución; de existir un efecto modificador se espera que exista un deterioro, pero nunca semejante al grupo que sólo recibe placebo; en el caso de un efecto sólo sintomático el deterioro eventualmente será igual al del grupo placebo (*Figura 1A*). Por otro lado, en los estudios de *inicio retrasado* un grupo recibe tratamiento y otro grupo recibe placebo y transcurrido cierto tiempo los pacientes del grupo placebo reciben también el tratamiento; de existir un efecto sólo sintomático los pacientes presentan una mejoría, sin embargo, la pendiente de deterioro continúa de forma paralela en el grupo placebo; por otra parte, de existir un efecto modificador presentan una mejoría, pero la pendiente de deterioro siempre es diferente al placebo de manera que la diferencia entre ambos grupos se hace más amplia con el paso del tiempo (*Figura 1B*). Este último tipo de estudio en la práctica es el que más se utiliza, sin embargo, ambos tienen limitaciones debido a que los tiem-



**Figura 1.** (A) Evolución clínica hipotética esperada según el efecto de un tratamiento ya sea sintomático o modificador de la enfermedad, en un estudio clínico de tipo retiro escalonado y (B) en un estudio de tipo inicio retrasado.



**Figura 2.** Diagrama esquemático de las dos vías de procesamiento proteolítico de la PPA y los fragmentos producidos.

pos que se debe esperar para observar los efectos o los deterioros no están establecidos del todo, a la fecha el consenso europeo ha sugerido que el seguimiento mínimo sea de 18 meses para un estudio clínico con un tratamiento modificador.<sup>7,8</sup>

#### Fisiopatología de la EA

Una descripción detallada y a profundidad sobre la fisiopatología de la EA trasciende a los objetivos del presente artículo. Sin embargo, resulta importante presentar primero un panorama general y breve acerca de las teorías y mecanismos que han sido implicados en el origen y progresión de la EA debido a que la mayoría de los blancos terapéuticos que son utilizados en los tratamientos modificadores están basados precisamente en la modificación o manipulación de estos mecanismos.

#### Hipótesis amiloidea

La hipótesis amiloidea de la EA fue propuesta formalmente por primera vez por Hardy & Allsop en 1991, y continúa siendo una de las hipótesis etiológicas que más sustento científico tiene hasta la actualidad.<sup>9</sup> Esta hipótesis propone que los efectos tóxicos derivados de la producción y acumulación excesiva del amiloide beta (Aβ), tanto intra como extracelular, sean uno de los eventos iniciales y centrales que originan y perpetúan el daño neuronal progresivo característico de la enfermedad.<sup>10,11</sup>

El amiloide beta (Aβ) es un péptido de 39 a 42 aminoácidos que fue por primera vez aislado de los vasos sanguíneos menígeos de pacientes con EA y que es el componente principal de una de las lesiones histopatológicas que se consideran típicas de la enfermedad: las placas seniles, neuríticas o

placas amiloides.<sup>12</sup> El Aβ es producido normalmente por todas las neuronas mediante el procesamiento proteolítico secuencial de una proteína integral de membrana tipo I, denominada proteína precursora de amiloide (PPA), a través de dos complejos enzimáticos, las β y las γ-secretasas.<sup>13</sup> El primer paso de la proteólisis de la PPA es realizada principalmente por enzimas con actividad de α-secretasa (primordialmente ADAM 10), estas enzimas cortan a la PPA dentro del dominio intramembranal que correspondería al fragmento Aβ, lo cual produce fragmentos solubles más grandes y evita la formación de fragmentos más pequeños y tóxicos como el Aβ (*vía no amiloidogénica*).<sup>14</sup> La acción de la α-secretasa libera el dominio N-terminal extracelular de la PPA llamado sAPP soluble, el cual ha demostrado poseer diversas propiedades neurotróficas y neuroprotectoras. Por otra parte, el fragmento C-terminal de la PPA que queda anclado a la membrana (C83 o CTFα) es nuevamente proteolizado por la γ-secretasa, produciendo la secreción por un lado, de los fragmentos p3 (Aβ 17-40 y 17-42), que tienen ciertas propiedades tóxicas celulares aunque de baja potencia, y, por otro lado, la liberación intracelular del dominio intracelular de la PPA (AICD), el cual ha demostrado propiedades neuroprotectoras<sup>14</sup> (*Figura 2*). En la llamada *vía amiloidogénica* la PPA es proteolizada secuencialmente primero por la β-secretasa (identificada como la aspartil proteasa BACE1), lo cual genera un fragmento soluble del dominio N-terminal llamado sAPPβ y el CTFβ que permanece unido a la membrana para ser nuevamente proteolizado por el complejo γ-secretasa produciendo entonces el Aβ.<sup>15</sup> La γ-secretasa está compuesta por un complejo de cuatro proteínas: Nicatrina, PEN-2, Aph-1 y

presenilina 1 o 2 (PS1 y PS2), de las cuales las presenilinas representan el sitio catalítico del complejo enzimático.

Es importante mencionar uno de los respaldos más importantes que ostenta esta hipótesis, proviene de que se ha demostrado que todas las mutaciones más frecuentemente asociadas con la EA tanto de tipo familiar como esporádica (PPA, PS1, PS2, APOE e4), de una u otra forma incrementan o modifican la tasa producción de A $\beta$ , lo cual sugiere una participación muy importante del A $\beta$  en la fisiopatología de la enfermedad.<sup>15</sup> Por otra parte, en la literatura existe una evidencia muy amplia a cerca de la toxicidad del A $\beta$  (especialmente de las formas más largas como el A $\beta$  1-42). En este sentido en múltiples estudios se ha demostrado que las propiedades tóxicas del A $\beta$  están mediadas por varios mecanismos, como son: estrés oxidante, disfunción mitocondrial, alteraciones en la permeabilidad membranal, inflamación, disfunción sináptica, excitotoxicidad a través de su interacción con receptores de diversos neurotransmisores (NMDA y AMPA), etc.<sup>16-20</sup> Sin embargo, es justo mencionar que también existe evidencia de que bajo ciertas circunstancias (dosis bajas, formas solubles, etc.) el A $\beta$  ha demostrado ejercer efectos positivos como antioxidante, antiapoptótico, como factor trófico, neuroprotector e incluso promoviendo la actividad sináptica, etc. Esto resulta muy importante debido a que presupone que el A $\beta$  también tiene un papel fisiológico muy importante.<sup>21</sup>

Sin embargo, existen varios aspectos que contradicen seriamente el papel central del A $\beta$  en la EA:

1. Se ha observado una muy pobre correlación entre la cantidad de lesiones amiloideas o placas neuríticas y el deterioro cognitivo en los pacientes con EA.
2. La presencia de placas amiloideas en el tejido cerebral de pacientes con envejecimiento normal sin deterioro cognitivo.<sup>22</sup>
3. Las escasa evidencia de efectos clínicos significativos de las terapias antiamilodogénicas actuales.<sup>23</sup>

### Hipótesis de tau

Desde los primeros estudios histopatológicos realizados por Alois Alzheimer se observó que el tejido nervioso de los pacientes con EA presentaban ciertas características típicas; una de ellas era la presencia de placas seniles y la otra era la degeneración neuronal fibrilar o marañas neurofibrilares (MNF).<sup>12</sup> Mas tarde se comprobó que el componente principal de estas lesiones eran agregados moleculares de una proteína llamada tau anormalmente fosforilada. La proteína tau forma parte de un grupo de proteínas llamadas Proteínas Asociadas a Microtúbulos o MAPs (por sus siglas en inglés) cuya función principal es la estabilización de los microtúbulos del citoesqueleto neuronal, así como la regulación de la polimerización de la tubulina en distintos procesos celulares como, por ejemplo, el transporte axónico.<sup>24</sup> La identificación de la proteína tau como componente principal de las MNF llevó a proponer que los agregados de esta proteína tenían un papel relevante en la fisiopatología de la EA. En estudios posteriores se demostró que la alteración en la función de la proteína tau era capaz de alterar el transporte axónico que resulta vital para

el funcionamiento neuronal normal y que la formación de agregados de esta proteína eran capaces de inducir daño y muerte neuronal.<sup>24</sup> Se piensa que uno de los procesos más importantes e iniciales en la alteración de la función de tau es la hiperfosforilación. La fosforilación de tau es sólo uno de los procesos de modificación postraduccional a los que está sometida esta proteína, todos los cuales resultan importantes para determinar su función biológica final. La proteína tau tiene más de 84 sitios potenciales de fosforilación y se ha demostrado que la fosforilación excesiva o realizada en sitios "anormales" de la proteína, afecta sus propiedades de unión a los microtúbulos, desestabilizando los microtúbulos y finalmente afectando todas sus funciones asociadas.<sup>25</sup> Es por esto que un gran esfuerzo de investigación básica se ha centrado en la identificación de las enzimas responsables de esta fosforilación anómala. A la fecha se sabe que existen diversas cinasas capaces de inducir la fosforilación de tau: glucógeno sintetasa cinasa-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ), cinasas dependiente de ciclina (cdk5), MAP cinasas (p38), proteína cinasa A (PKA), proteína cinasa C (PKC), entre otras. De la misma forma se han estudiado las enzimas responsables de la desfosforilación fisiológica de tau (fosfatasas); sobre todo por la posibilidad que pueden representar blancos terapéuticos para combatir la hiperfosforilación de tau en la EA; se han identificado varias fosfatasas, sin embargo, parece ser que sólo la PP1, PP2A y PP2B participan en la desfosforilación de la tau hiperfosforilada.<sup>25</sup> De forma interesante se ha demostrado que algunas mutaciones de tau alteran el sitio que reconocen algunas de esas fosfatasas, por lo cual no pueden realizar su actividad resultando en una hiperfosforilación de la misma. Recientemente, además de sus funciones en el transporte axonal, se ha demostrado la presencia de tau en las espinas dendríticas neuronales, en donde se propone que juega un papel importante como proteína de "andamiaje" (*scaffolding protein*) interaccionando con distintas proteínas sinápticas como la PSD95 y otras involucradas en la señalización intracelular que produce la activación de los receptores glutamatérgicos de tipo NMDA. Dicha evidencia sugiere que la hiperfosforilación de tau puede afectar tanto el transporte axonal como los procesos de plasticidad sináptica.<sup>26</sup>

Uno de los aspectos que más apoya la participación de tau en la EA es el hecho de que la presencia de MNF se correlaciona de manera estrecha con el deterioro cognitivo observado en los pacientes. Sin embargo, el aspecto en contra más importante es que ninguna mutación de esta proteína está relacionada con el desarrollo de EA; todas las mutaciones descritas de tau están relacionadas con otras "taupatías" como la demencia fronto-temporal, la degeneración corticobasal, la parálisis supranuclear progresiva, etc.<sup>27</sup>

Es importante mencionar que aunque ambas hipótesis fisiopatológicas (A $\beta$  y tau) han sido planteadas por separado, en realidad no son excluyentes, y en la actualidad se han demostrado al menos tres maneras en las que ambos factores interactúan:

1. El A $\beta$  genera la fosforilación de tau, por ejemplo, a través de la activación de la GSK-3 $\beta$ .

2. Ambos factores tienen efectos tóxicos sinérgicos, por ejemplo, sobre la función mitocondrial: tau afecta principalmente el complejo I mientras que A $\beta$  afecta principalmente al complejo IV de la cadena de transporte de electrones mitocondrial.
3. La proteína tau media los efectos tóxicos inducidos por el A $\beta$ , esto principalmente respaldado por diversos estudios que han demostrado una drástica disminución de la toxicidad del A $\beta$  cuando se administra a ratones Knock-out para la proteína tau.<sup>26</sup>

### Otros mecanismos fisiopatológicos

• **Estrés oxidante:** Un incremento en la formación de especies reactivas del oxígeno (ERO) y nitrógeno ha sido ampliamente demostrado en el cerebro de los pacientes con EA al compararlos con individuos de la misma edad sin deterioro cognitivo. Paralelamente se ha documentado una disminución de la actividad de los sistemas antioxidantes endógenos tanto enzimáticos como no enzimáticos. De la misma forma, los niveles de los marcadores de estrés oxidante son más elevados en las regiones cerebrales más afectadas por la enfermedad y, finalmente, se ha demostrado que los agregados de A $\beta$  son capaces de generar por sí solos ERO, y, por otro lado, se ha demostrado que el estrés oxidante incrementa la fosforilación de la proteína tau.<sup>28</sup> Toda esta evidencia apoya sólidamente la participación del estrés oxidante en la EA, y aunque se considera uno de los marcadores de aparición más precoz, también ha quedado claro que no se trata en realidad de un mecanismo de daño específico de la EA si no de un marcador de daño genérico presente en múltiples enfermedades neurológicas, por lo que se considera un efecto más que un mecanismo etiológico.

• **Inflamación:** Existe una amplia evidencia tanto básica como clínica a cerca de la participación de activación del sistema inmune y la inflamación en la patogenia de la EA.<sup>29</sup> Incluso algunos estudios epidemiológicos a gran escala con más de 200,000 casos y controles han mostrado beneficio a largo plazo del uso de antiinflamatorios no esteroideos o AINE reduciendo la incidencia de EA.<sup>30</sup> Con toda esta evidencia resulta tentador concluir que la EA es una enfermedad inflamatoria y que la inhibición de inflamación resultaría beneficiosa. Sin embargo, hay varias observaciones que indican un panorama más complejo, así como las dificultades inherentes focalización inflamación en la EA. Es evidente, sobre todo a partir de modelos animales para EA, que muchas proteínas inflamatorias clásicas y las citocinas tienen una función ambivalente y que simplemente suprimirlas puede causar más daño que bien. Es desconcertante que en algunos estudios se haya demostrado mayor activación inmune en el tejido cerebral de pacientes ancianos cognitivamente normales que en pacientes más jóvenes o con EA, en estos pacientes el estado pro-inflamatorio parece tener un efecto protector más que perjudicial.<sup>31</sup> Por último, la observación de que las vías inflamatorias se encuentran alteradas en la periferia en la EA, junto con la evidencia en modelos animales de que el aumento en la inflamación periférica conduce o incrementa la neurodegeneración y la progresión de la enfermedad,<sup>32</sup> parece sugerir que existe un relación estrecha entre la activación

inmunológica y la neurodegeneración, sin embargo, una vez más los estudios clínicos no han apoyado que la inhibición sistemática de la inflamación tenga efectos positivos en la EA, quizás la modulación de blancos más selectivos y en determinados momentos de la evolución de la enfermedad rinda mejores resultados en el futuro.

### Excitotoxicidad

Podríamos definir a la excitotoxicidad como el proceso patológico que es ocasionado por la estimulación excesiva de los receptores glutamatérgicos de tipo NMDA, AMPA, kainato y metabotrópicos, debido al aumento intenso o prolongado en las concentraciones sinápticas de aminoácidos excitadores como el glutamato y el aspartato. Dicho proceso incrementa las concentraciones intracelulares globales de calcio y sodio, lo cual desencadena una serie de procesos patológicos como la activación de enzimas líticas dependientes de calcio (fosfolipasas, proteasas, endonucleasas, etc.), y la alteración de los balances iónicos transmembranales conduciendo a edema celular por la entrada de sodio. Dichas alteraciones producen a su vez disfunción mitocondrial, y generación de especies reactivas de oxígeno conduciendo a la necrosis o apoptosis neuronal.<sup>33</sup> La evidencia a cerca de la participación de la excitotoxicidad en la EA, proviene de dos grandes vertientes:

1. Se ha demostrado que la transmisión glutamatérgica está alterada en la EA, por ejemplo, se ha demostrado una reducción de los transportadores de glutamato (EAA2), aumento de la sensibilidad al glutamato en neuronas cultivadas, además de que se ha demostrado que la excitotoxicidad es uno de los mecanismos que puede condicionar directamente el A $\beta$ .
2. La segunda acerca del papel protector que se ha observado con distintos antagonistas glutamatérgicos, efecto que ha trascendido incluso al ámbito clínico con el uso de la memantina en la EA, que es a la fecha el único antagonista NMDA, que debido a su perfil de seguridad está aceptado para su uso clínico.<sup>34</sup>

### TERAPIAS CENTRADAS EN LA HIPÓTESIS AMILOIDOGÉNICA TERAPIAS QUE MODULAN O INHIBEN LA PRODUCCIÓN DE A $\beta$

#### Inhibidores de la gamma-secretasa (IGS)

Desde que se descubrió el complejo enzimático que era responsable del paso final en la producción del A $\beta$  a partir de la PPA (gamma secretasa o GS) se propuso inmediatamente su inhibición como una estrategia terapéutica lógica en la EA. Sin embargo, el complejo gamma secretasa es un blanco terapéutico muy problemático en términos de seguridad debido a que se trata de una enzima que cataliza la proteólisis de > 50 proteínas membranales entre las que se encuentra Notch-1 que es una proteína que está relacionada con importantes procesos fisiológicos de proliferación y diferenciación celular.<sup>35</sup>

En 2001 se reportó por primera vez la utilización clínica de un IGS (BMS-299897, Bristol Myers Squibb), sin embargo, los datos clínicos de dicho estudio nunca fueron publicados por completo, por lo que se infiere que el estudio se suspendió por cues-

tiones de seguridad. Sin duda el IGS no selectivo más estudiado y documentado clínicamente es el Semagacestat (LY-450139; Eli Lilly); los dos primeros estudios fase I demostraron una reducción de los niveles séricos de A $\beta$  de hasta 73% con dosis de 140 mg, sin embargo, en ambos se reportó después de las dosis un incremento de “rebote” del A $\beta$  sérico, lo cual se ha explicado por la acumulación de la PPA; en ambos estudios no se observó efecto sobre el A $\beta$  en LCR.<sup>36,37</sup> Dos estudios posteriores fase II realizados en pacientes con EA contra placebo confirmaron la reducción del A $\beta$  1-40 sérico de entre 58 a 78% dependiendo de la dosis, pero una vez más no existieron cambios en el A $\beta$  en LCR, ni en las evaluaciones cognitivas o funcionales; los efectos adversos fueron raros e incluyeron hemorragia digestiva, obstrucción intestinal, erupción cutánea y cambios en la coloración del cabello.<sup>38</sup> En marzo de 2008 se iniciaron dos estudios multicéntricos fase III (IDENTITY 1 y 2), uno de ellos incluso con diseño de inicio retrasado para establecer si el semagacestat era capaz de detener la progresión de la enfermedad en más de 2,000 pacientes, sin embargo, dichos estudios tuvieron que ser suspendidos prematuramente debido a que se observó un deterioro cognitivo más acelerado en el grupo tratado y un incremento en el riesgo de cáncer de piel.<sup>39</sup>

### Moduladores de la gamma secretasa (MGS)

La modulación del complejo gamma secretasa (GS) se observó por primera vez en 2001 *in vitro* con distintos AINEs (ibuprofeno, sulindaco e indometacina). Estudios posteriores confirmaron que muchos otros tenían propiedades moduladoras de la GS, disminuyendo la síntesis de las formas más largas del A $\beta$  (A $\beta$  1-42), favoreciendo la producción de formas más cortas y menos tóxicas del A $\beta$  (A $\beta$  1-38), y sin afectar la proteólisis de otras proteínas de membrana como la Notch-1.<sup>35</sup> El primer MGS tipo AINE que se utilizó en clínica fue el tarenfluribil (flurizan o R-flurbiprofeno); los estudios experimentales en ratones transgénicos habían demostrado reducción de las concentraciones cerebrales de A $\beta$  1-42 e incluso una mejoría en el deterioro cognitivo. Los estudios fase II llevados cabo en pacientes con EA leve a moderada, mostraron una buena tolerancia y aparentemente sugerían una mejoría cognitiva discreta en el grupo de EA leve.<sup>40</sup> Sin embargo, el estudio fase III llevado a cabo en 1,684 pacientes con EA leve no demostró ninguna mejoría funcional o cognitiva. Las razones de esta falla terapéutica no se conocen con precisión, pero posteriormente se demostró que el medicamento es en realidad un modulador débil de la GS y que atraviesa pobremente la barrera hematoencefálica (BHE), además de que debido a su estructura (AINE) y efecto sobre la ciclooxygenasa-2, se sugiere que al inhibir la activación microglial se disminuye también la eliminación del A $\beta$ .<sup>35</sup>

El mecanismo de acción propuesto para estos MGS tipo AINEs o de primera generación, es la unión directa a la PPA alterado su proteólisis, pero recientemente se están desarrollando y estudiando experimentalmente una segunda generación de moduladores más potentes y selectivos que se unen directamente a los sitios de modulación alostérica de la GS, dichos fármacos se encuentran en este momento en estudios fase I.<sup>41</sup>

### Inhibidores de beta-secretasa (IBS)

Aunque el desarrollo de IBS ha sido un objetivo importante de la industria farmacéutica y los laboratorios académicos, el progreso en este ámbito en realidad ha sido muy lento, ya que se ha demostrado que es difícil desarrollar potentes IBS que crucen adecuadamente la barrera hematoencefálica.<sup>42</sup> Un IBS biodisponible por vía oral (CTS-21166, CoMentis) se utilizó en un ensayo clínico fase I,<sup>43</sup> y aunque se informó que tiene buena tolerancia y reduce los niveles plasmáticos de A $\beta$ , los niveles del fármaco en el SNC y los efectos sobre A $\beta$  en el LCR no fueron evaluados. Dada la enorme inversión que las compañías farmacéuticas están haciendo en el desarrollo de nuevos IBS que tengan buena penetración al SNC y que sean biodisponibles por vía oral es altamente probable que se cuente con nuevos fármacos en los próximos años. Sin embargo, la cuestión acerca de si los IBS serán bien tolerados a largo plazo aún no ha sido resuelta. Estudios recientes sugieren que BACE1 juega un papel clave en el desarrollo de la mielinización normal, sin embargo, no está claro si la inhibición de BACE1 podría provocar alteraciones de la mielinización en el adulto.<sup>44,45</sup>

### Activadores de alfa secretasa (AAS)

Estimular la actividad de la alfa secretasa al menos en teoría tendría un efecto benéfico doble, por un lado disminuiría la producción del A $\beta$  y, por otro lado, favorecería la producción de péptidos más pequeños como el sAPP $\alpha$  al cual se le han demostrado propiedades neuroprotectoras. En la actualidad se sabe que la alfa secretasa se encuentra regulada por múltiples factores, entre ellos la actividad de la fosfocinasa C (PKC), por lo que distintos estimuladores de PKC han sido probados. De ellos la briostatina 1 incluso ha sido utilizada en estudios clínicos fase II en los cuales se demostró que incrementa las concentraciones de sAPP $\alpha$  y disminuye los niveles de A $\beta$  1-40, sin embargo, también se reportaron múltiples efectos colaterales. Por otro lado, también se ha demostrado que las estatinas estimulan la actividad de las alfa secretasas, sin embargo, debido a que las estatinas exhiben múltiples efectos farmacológicos, su efecto sobre las alfa secretasas se ha estudiado poco. Finalmente la estimulación de neurotransmisión colinérgica en especial de los receptores M1 en el SNC ha demostrado estimular la actividad de las alfa secretasas; incluso existen estudios en pacientes con EA en los que se ha observado disminución en los niveles de A $\beta$  en el LCR, sin embargo, la estimulación de estos receptores también se ha asociado con una gran cantidad de efectos indeseables que han limitado su utilidad clínica.<sup>46</sup> Recientemente la utilización de el AAS llamado EHT-0202 que es un modulador del receptor GABA tipo A, se encuentra ya en ensayos clínicos, en los estudios fase I se demostró se adecuada tolerancia y ya se encuentra actualmente en estudios fase II para establecer su eficacia y comprobar su seguridad.<sup>35</sup>

### INMUNOTERAPIA

#### Terapias de inmunización activa

En 1999 se utilizó por primera vez la aplicación experimental periférica de A $\beta$  emulsificado en ratones transgénicos para

inducir inmunización activa contra el A $\beta$  obteniendo resultados patológicos sorprendentes al demostrar que estos ratones se encontraban prácticamente sin depósitos de amiloide después de la inmunización. La confirmación posterior de estos resultados y su correlación con una mejoría conductual en los animales de experimentación, inmediatamente condujo a Elan Pharmaceuticals y Wyeth a desarrollar una vacuna para su uso en seres humanos basada en el A $\beta$  1-42 sintético completo (AN-1792). Los resultados del estudio fase I demostraron una buena tolerancia, por lo que pronto se desarrolló el estudio fase IIa para evaluar la eficacia de dicha vacuna. Dicho estudio inició en octubre de 2001, pero lamentablemente tuvo que ser suspendido prematuramente (enero 2002) cuando 6% de los pacientes desarrolló meningitis aséptica grave. Estudios posteriores demostraron que esta complicación se asocia aparentemente con la activación de células T cooperadoras proinflamatorias (Th1), generada por la región C terminal del A $\beta$  utilizada en la inmunización. Aunque inicialmente estos estudios sugerían que a pesar de esta complicación grave existía una mejoría cognitiva en estos pacientes, los estudios de seguimiento a seis años no demostraron ningún efecto significativo sobre el deterioro cognitivo.<sup>47</sup>

A pesar de estos resultados iniciales desalentadores, la investigación sobre la inmunización activa continuó con el desarrollo de las vacunas llamadas de *segunda generación*, las cuales utilizan sólo algunos epítopes del A $\beta$ , en especial el del amino terminal, el cual está más relacionado con la inducción de la respuesta humoral de células B.

La primera vacuna de segunda generación utilizada en pacientes con EA fue desarrollada por Novartis (CAD106) usando múltiples copias del péptido A $\beta$  1-6 (que contiene fragmento el N-terminal responsable de la activación de células B). Los estudios preclínicos habían demostrado títulos elevados de anticuerpos anti-A $\beta$ , sin activación de células T y una reducción significativa de la acumulación de A $\beta$  tisular. El estudio fase I incluyó 58 pacientes con EA moderada a severa en dos grupos que evaluaron dos dosis de la vacuna (50 o 150  $\mu$ g) en tres aplicaciones. Los resultados mostraron niveles óptimos de anticuerpos anti-A $\beta$  en 67-82% de los pacientes, reportando efectos colaterales menores como nasofaringitis o eritema en el sitio de aplicación. Con todo esto se concluyó que la vacuna es bien tolerada y genera una adecuada respuesta humoral.<sup>48</sup> Otras vacunas de segunda generación que se están probando en la actualidad son las siguientes:<sup>47</sup>

- 1. ACI-24 (AC immune).** Es un péptido A $\beta$ 1-15 en el que en ambos extremos las dos lisinas terminales están unidas. Como una novedad en el vehículo de administración, el antígeno está embebido en una membrana liposomal y en estudios preclínicos la vacuna demostró mejorar los déficits cognitivos de ratones transgénicos. En la actualidad se está evaluando su seguridad y eficacia en estudios clínicos multicéntricos fase I/II en Dinamarca, Finlandia y Suecia (Thomson Reuters Pharma).
- 2. Affitope AD-02 (Affiris, Viena AT y GlaxoSmithKline Biologicals).** Es una vacuna que consta de un péptido de seis aminoácidos dirigido contra el N-terminal de A $\beta$ . Ex-

perimentalmente se demostró que la respuesta de anticuerpos se centra exclusivamente el A $\beta$  y no mostró reactividad cruzada con la PPA. El ensayo clínico europeo de fase II en 420 pacientes está actualmente en curso (Thomson Reuters Pharma).

- 3. Affitope-AD-03 (Affiris y GlaxoSmithKline Biologicals).** El estudio clínico de fase I se inició en 2010 y se completó en noviembre de 2011, los resultados deberán publicarse en 2013 (Thomson Reuters Pharma).
- 4. ACC-001 (vanutide cridificar y Pfizer).** Dos estudios de fase II han sido desarrollados en pacientes con EA leve a moderada AD: uno en Japón (terminado) y un curso en EE.UU.
- 5. UB-311 (United Biomedical).** Es una vacuna administrada por vía intramuscular dirigida contra los aminoácidos 1-14 del N-terminal del A $\beta$ . Se encuentra actualmente en estudios fase I en Taiwán en pacientes con EA leve a moderada (Thomson Reuters Pharma).
- 6. V-950 (Merck).** Es un péptido N-terminal del A $\beta$  conjugado con un adyuvante que contiene aluminio. Un estudio clínico fase II, doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo, con dosis escaladas para evaluar la seguridad, tolerabilidad e inmunogenicidad de la V-950 con adyuvante de aluminio y con o sin ISCOMATRIX™ como adyuvante en pacientes con EA actualmente ya se ha completado pero los resultados aun no están disponibles.<sup>47</sup>

Recientemente en un estudio preclínico usando animales transgénicos para EA se probó la eficacia de una vacuna basada sólo en los epítopes del A $\beta$  (Lu AF20513), encontrando una respuesta inmunológica sólida y consistente tanto celular (no autoreactiva -Th2) como humoral, además de una reducción de las alteraciones patológicas cerebrales, sin inducir activación micro o astrogial, y sin aumentar la angiopatía amiloide. Se espera que los alentadores resultados de este estudio preclínico justifiquen en breve el inicio de la fase clínica de esta nueva vacuna.<sup>49</sup>

### Terapias de inmunización pasiva

Poco después del desarrollo experimental de la vacuna AN-1792 dos estudios confirmaron que la administración en animales transgénicos de los anticuerpos producidos por la inmunización activa con esta vacuna disminuían las alteraciones patológicas cerebrales incrementando la eliminación de los depósitos de A $\beta$ .<sup>50,51</sup> Esta evidencia llevó rápidamente al desarrollo de anticuerpos monoclonales humanizados contra el A $\beta$  (Bapineuzumab, Wyeth Elan). El Bapineuzumab fue la primera vacuna con inmunización pasiva empleada en estudios clínicos. En el estudio fase II se trató a 200 pacientes con EA moderada a severa con múltiples dosis ascendentes, sin embargo, sólo un pequeño grupo de pacientes con EA no portadores del alelo ApoE respondió satisfactoriamente después de 78 semanas.<sup>52</sup> Sin embargo, estudios clínicos posteriores en portadores y no portadores de alelo ApoE no demostraron ningún efecto positivo sobre el deterioro cognitivo por lo que fueron suspendidos prematuramente.<sup>47</sup> Estudios retrospectivos de neuroimagen en más de 200 pacientes tratados con

Bapineuzumab han demostrado que 17% de los pacientes tratados desarrollan edema cerebral vasogénico transitorio y de éstos 47% también desarrollan depósitos de hemosiderina. Sin embargo, en más de 70% de los casos dichas complicaciones no se relacionaron con sintomatología neurológica alguna; el estudio sugiere que el desarrollo de estas complicaciones tiene relación con la dosis y con la presencia del alelo  $\epsilon 4$  de la ApoE.<sup>53</sup> Un estudio que utilizó tomografía por emisión de positrones empleando el componente B de Pittsburg (PET C-PiB), demostró una reducción significativa de la retención cortical de C-PiB en los pacientes tratados con Bapineuzumab respecto de su estudio basal y de los controles.<sup>54</sup> Sin embargo, a pesar de esta evidencia paraclínica, los estudios post-mortem en pacientes tratados sugieren que el bapineuzumab en realidad sólo altera la composición del A $\beta$ , ya que se observó una reducción del A $\beta$  1-42 con un aumento del A $\beta$  1-40, sin afectar los niveles de PPA o tau.<sup>55</sup>

El Solanezumab (LY2062430; Ely Lilly) es un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra la región central del A $\beta$ . El primer estudio fase II para establecer la eficacia y seguridad del tratamiento se llevó a cabo en 22 pacientes con diferentes dosis y regímenes de administración durante 12 semanas; en dicho estudio se observó un incremento en los niveles de A $\beta$  1-40 y 1-42 tanto en suero como en LCR sin observar ninguna mejoría en la escala ADAS-Cog.<sup>56</sup> Con estos antecedentes se realizaron dos estudios clínicos más numerosos fase II con solanezumab (400mg cada 4 semanas por 80 semanas). El estudio EXPEDITION 1 demostró una disminución significativa del 42% en el deterioro cognitivo en pacientes con EA leve, pero el estudio EXPEDITION 2 sólo demostró una mejoría no significativa de 20% en el deterioro cognitivo y en ninguno de los dos estudios se demostró una mejoría significativa de la funcionalidad ([www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)).

#### Otros anticuerpos monoclonales

Diversos anticuerpos monoclonales dirigidos contra distintos epitopos del A $\beta$ , con distintas afinidades y en contra de diferentes estadios del A $\beta$  como oligómeros solubles o protofibrillas están siendo probados en la actualidad; por ejemplo: Gantenerumab en la actualidad se encuentra en estudios fase III con más de 770 pacientes; Crenezumab se trata del primer tratamiento modificador que se utiliza para la prevención del deterioro cognitivo en una forma familiar de EA, se está utilizando una gran familia de Colombia con EA de inicio temprano, los resultados de estos estudios están por publicarse en los siguientes meses.<sup>47</sup> Una forma de administración reciente y novedosa comprende la utilización de un vector adenoviral que es portador de DNA que codifica para la síntesis de anticuerpos monoclonales contra el A $\beta$ ; los estudios preclínicos han demostrado que una sola aplicación intramuscular es suficiente para inducir una respuesta humoral consistente que disminuye los depósitos de A $\beta$  en ratones transgénicos.<sup>57</sup>

#### Inmunoglobulina G polyclonal

En 2004 se reportó por primera vez la utilización de inmunoglobulina G polyclonal (Baxter) en el tratamiento de la EA en un estudio piloto no controlado (1-2 g/Kg IV cada cuatro

semanas durante seis meses) en el que se observó una disminución significativa de los niveles de A $\beta$  en el líquido cefalorraquídeo, asociado a la ausencia de progresión del deterioro cognitivo.<sup>58</sup> Dos estudios posteriores que además exploraron diferentes dosis confirmaron la adecuada tolerancia del tratamiento aunada a una aparente detención de la progresión clínica.<sup>59,60</sup> Basado en estos estudios, recientemente se publicaron los resultados de un estudio multicéntrico fase II en 89 pacientes con EA moderada a severa utilizando seis diferentes dosis y regímenes de administración con la finalidad de evaluar la tolerancia y los efectos sobre los niveles de A $\beta$  en LCR; en dicho estudio se observó una adecuada tolerancia pero sólo se demostró una diferencia significativa en los niveles de A $\beta$  respecto del placebo en un solo grupo de inmunoglobulina (0.4g/kg cada dos semanas) y no se demostró ningún efecto sobre la cognición.<sup>61</sup>

#### Inhibidores de la agregación de A $\beta$

El inhibidor de la agregación más estudiado ha sido el tramiprosato (ácido 3-aminopropanosulfónico, NC-531, 3APS, Alzhemed®), se supone que el tramiprosato mimetiza las propiedades aniónicas de los glicosaminoglicanos inhibiendo la agregación y depósito del A $\beta$ . Los estudios fase II demostraron que el fármaco estaba efectivamente presente en el LCR y los efectos colaterales más comunes fueron sólo náusea y vómito, pero el estudio fase III no demostró ninguna mejoría cognitiva o funcional.<sup>62</sup>

PBT2 es un compuesto de segunda generación relacionado con el antibiótico clioquinol, el cual había demostrado eficacia en inhibir la agregación de A $\beta$ , pero los estudios clínicos tuvieron que ser detenidos por impurezas en su formulación. Como el clioquinol, el PBT2 es un quelante de metales que está diseñado para alterar la agregación de A $\beta$  dependiente de metales, así como la actividad redox asociada con los complejos A $\beta$ -metales.<sup>63</sup> Un estudio de fase II mostró que el PBT2 tiene un buen perfil de tolerancia y seguridad, demostrando además una reducción significativa del A $\beta$  1-42 en el LCR en comparación con placebo y una mejoría significativa en las funciones ejecutivas, estos resultados han justificado la puesta en marcha de estudios fase IIb y fase II que se realizan en este momento.<sup>64</sup>

Recientemente un estudio fase II probó diferentes dosis de scyllo-inositol o ELND 005 (inhibidor de la agregación de A $\beta$ ) en 353 pacientes con EA leve a moderada durante 78 semanas, el estudio mostró una adecuada tolerabilidad, pero no demostró diferencias en la función cognitiva, aunque existió una disminución significativa en los niveles de A $\beta$  1-42 en el LCR.<sup>65</sup>

#### TERAPIAS CENTRADAS EN LA HIPÓTESIS DE TAU

Comparativamente a las terapias centradas en A $\beta$ , las terapias farmacológicas centradas en la modificación de tau han recibido menos impulso y atención como blancos terapéuticos en la EA, y esto se debe fundamentalmente a que el papel fisiopatológico de esta proteína continúa en discusión hasta la actualidad. Sin embargo, alternativamente las terapias anti-tau ofrecen la posibilidad y ventaja de no solo de representar terapias para una sola enfermedad si no de poder ser utilizadas en

otras taupatías como la demencia frontotemporal, la parálisis supranuclear progresiva, etc.

### **Estabilización de microtúbulos**

Se ha observado en estudios experimentales que un excelente estabilizador de microtúbulos que favorece el transporte axonal es el paclitaxel, el cual se utiliza como quimioterapia en el cáncer, pero atraviesa pobremente la BHE<sup>66</sup> por lo que no es aplicable en la EA. Hay otro fármaco potencial que tiene un efecto similar de estabilización de microtúbulos, la epotilona D, el cual en estudios preclínicos ha dado resultados alentadores en modelos animales. En la actualidad, se están desarrollando ya fases clínicas en humanos con epotilona D.<sup>67,68</sup> En paralelo, se investiga el efecto benéfico de otro estabilizador de microtúbulos, el davunetide, en otras taupatías, como los son la parálisis supranuclear progresiva, la demencia frontotemporal, el parkinsonismo asociado al cromosoma 17, la degeneración corticobasal y la afasia progresiva no fluente.<sup>69</sup>

### **Inhibición de la fosforilación de tau**

Se menciona que la hiperfosforilación de tau es un paso crucial en el inicio de la neurodegeneración mediada por tau, provocando la inestabilidad de los microtúbulos, problemas en la proteólisis y otras fallas de la función de tau. El estado de fosforilación de tau depende del balance entre las proteínas cinasas y las fosfatases. Así, la inhibición de cinasas y la activación de fosfatases representan un excelente blanco terapéutico potencial en el contexto de tratamiento de la EA y otras demencias relacionadas.

### **Inhibición de las cinasas de tau**

Diversas cinasas han demostrado que fosforilan a tau *in vitro*,<sup>70</sup> pero se sospecha que la identidad de varias cinasas que actúan *in vivo* permanecen todavía sin identificar. Se estima que las cinasas más importantes para la fosforilación de tau son la glucógeno sintetasa cinasa 3 (GSK-3), en sus isoformas GSK-3 $\alpha$  y GSK-3 $\beta$ , la ciclina dependiente de cinasa 5 (CDK-5), caseína cinasa 1 (CK1) y la proteína cinasa A (PKA). De las cinasas antes descritas, destacan GSK-3 y CDK-5 como mejores blancos terapéuticos debido a que fosforilan a tau en un mayor número de sitios, además de que la expresión de estas enzimas es alta en el cerebro y se han observado aumentadas en el tejido cerebral de pacientes con EA.<sup>71,72</sup> Estudios recientes en modelos animales mencionan que la GSK-3 $\alpha$  contribuye a la formación tanto de placas seniles como de MNF, mientras que GSK-3 $\beta$  sólo se relaciona con la formación de MNF. Por esta razón, es lógico pensar que los esfuerzos a este nivel son para volver blanco terapéutico principal a GSK-3 $\alpha$ .<sup>73</sup> En un estudio experimental se demostró que la administración de litio, que es un inhibidor de la GSK-3, previene la hiperfosforilación de tau, previniendo la nueva formación de MNF, sin embargo, no se demostró que afectara las MNF previamente formadas.<sup>74</sup> Al ser el litio un viejo conocido en el arsenal terapéutico de otras enfermedades del sistema nervioso, se diseñaron algunos estudios clínicos para valorar el efecto a nivel cognitivo y en biomarcadores en pacientes con deterioro cognitivo leve y demencia. En el primero de ellos, el uso de litio

se asoció con una disminución en los niveles de proteína tau fosforilada en el LCR y un mejor desempeño cognitivo, mientras que en el segundo estudio no se mostraron efectos positivos en los síntomas clínicos ni en los biomarcadores.<sup>75-77</sup>

### **Activación de fosfatases**

La actividad de la proteína fosfatasa 2A (PP2A) y la PP-1 se ha observado disminuida en 20% en los cerebros de pacientes con EA,<sup>78</sup> siendo la PP2A responsable de aproximadamente 70% de la fosforilación de tau cerebral.<sup>79</sup> A la fecha múltiples sustancias químicas han sido descritas como estimuladoras de PP2A, que incluyen clases de esfingoides, fenólicos, aniónicos y catiónicos. Sin embargo, debido a que PP2A está involucrada en múltiples vías de señalización para mantener la homeostasis celular, la activación indiscriminada de PP2A se relaciona con muchos efectos adversos, lo que hace que su utilidad clínica se vea disminuida. Se ha observado también que la memantina, que es un inhibidor no competitivo de los receptores NMDA, tiene un efecto estimulante sobre PP2A, por lo que se pueden encontrar niveles bajos de tau hiperfosforilada en paciente que toman regularmente este fármaco.<sup>80</sup>

### **Modificaciones postraduccionales**

Junto con la fosforilación se han descrito algunas modificaciones postraduccionales de tau, incluyendo glucosilación, nitración y acetilación. Estas modificaciones podrían alterar algunas funciones de tau directa o indirectamente, aunque han recibido mucho menos atención comparado con el mecanismo de la fosforilación. Múltiples glucosilaciones de tau se han descrito en las etapas iniciales que pueden provocar posteriormente la hiperfosforilación de tau en los cerebros con EA.<sup>81</sup> La modulación de estas modificaciones postraduccionales de tau podría representar un nuevo blanco terapéutico, pero se necesita más investigación para que se avance en los estudios clínicos.

### **Inhibición de la oligomerización/fibrilación de tau**

Se ha cuestionado durante mucho tiempo el potencial tóxico de tau cuando forma agregados moleculares. Al respecto, se piensa que la “monomerización” como objetivo puede ser un excelente blanco terapéutico. Se ha descrito al azul de metileno (que es una fenotiazina) con potencial de inhibir la unión tau-tau; un estudio en fase II con azul de metileno en pacientes con EA leve o moderada demostró efectividad al tratar el déficit cognitivo, medido por resultados del Mini Mental y ADAS-cog.<sup>82</sup> En este momento se está realizando un estudio clínico fase III en pacientes con EA con esta sustancia para establecer su eficacia así como sus efectos adversos potenciales.

### **Degradación de tau anormal o marañas neurofibrilares formadas**

Otra estrategia para reducir los niveles patológicos o tóxicos de tau, incluyendo los oligómeros de tau, es mejorando su degradación. Actualmente se sabe que la proteína se degrada por autofagocitosis por vías lisosomales: macroautofagia, microautofagia y autofagia mediada por chaperonas. En un estudio en modelos experimentales en los que se han administrado inductores de autofagia, se observó disminución de la

agregación de tau y de la neurotoxicidad mediada por ella.<sup>83</sup> Las inmunofilinas, como la FKBP51 y FKBP52 son proteínas co-chaperonas en los complejos tau-HSP90, se unen directamente a la forma hiperfosforilada, inhibiendo la polimerización *in vitro*, por lo tanto, su sobreexpresión previene la acumulación de tau.<sup>84</sup>

En modelos de inhibición de la macroautofagia, como la administración de 3-metilanftamina, se ha demostrado un aumento en la toxicidad por el depósito de tau en células N2A, y por otro lado, la administración de rehalosa (un activador de autofagia) disminuye la cantidad de tau insoluble, mejorando la sobrevida neuronal en modelos experimentales de ratones que expresan la tau humana mutante.<sup>85</sup>

### **Inhibición de tau y la expresión de Fyn**

La Fyn cinasa es una enzima que regula la neurotoxicidad mediada por tau. Esta proteína se encuentra a nivel postsináptico y conforme la Fyn se eleva en cerebro de los pacientes con AE se ha demostrado que aumenta la disfunción sináptica.<sup>86</sup> En un artículo reciente se demostró que la hiperfosforilación de tau juega un papel crítico en la localización anormal de tau en las espinas dendríticas postsinápticas. Esto causa acumulación de tau hiperfosforilada, lo cual puede afectar la función sináptica local y el depósito de A $\beta$  dependiente de Fyn.<sup>87</sup> En la actualidad se están dirigiendo estrategias terapéuticas que abordan este mecanismo patogénico.

### **Inmunización anti-tau**

Los estudios iniciales con la inmunización de tau sugerían que la inmunización en modelos animales podía producir daño axonal, gliosis e infiltrados mononucleares similares a la encefalitis. Sin embargo, un estudio preclínico reciente en realizado en ratones ha proporcionado pruebas de que la inmunoterapia anti-tau podría tener eficacia. Una vacuna basada en un péptido de tau fosforilada fue capaz de evitar la acumulación de tau y mejorar los déficits motores presentes en estos ratones. Incluso la inyección directa del anticuerpo polyclonal purificado obtenido del ratón ha demostrado que atraviesa la BHE y se une a estructuras intracelulares de tau de forma eficaz.<sup>88</sup>

## **OTRAS TERAPIAS**

### **Anti-inflamatorios**

Aunque previamente se publicaron artículos de tipo retrospectivo y observacional, en los cuales el uso crónico de anti-inflamatorios no esteroideos, en personas con padecimientos reumáticos, tuvieron menor incidencia de EA, posteriormente se publicó información refutando dichos hallazgos.<sup>89,90</sup>

Uno de los medicamentos con acción anti-inflamatoria más controvertidos, aunque quizás con un poco más de evidencia clínica de mejorar (por lo menos en forma transitoria), los déficits cognitivos es el etanercept, el cual se inyecta directamente en región periespinal a nivel cervical (no por vía intratecal). El etanercept es un inhibidor del factor de necrosis tumoral, el cual juega un papel fundamental en el proceso inflamatorio de la EA a través de la activación de los gliotransmisores y las citoquinas que actúan en la

neuroinflamación y la subsecuente disfunción sináptica.<sup>91</sup> En reportes anecdoticos y en un estudio abierto en pacientes con EA a seis meses, se comprobó una mejoría transitoria y extraordinariamente rápida con su aplicación en ámbitos como: la cognición, el estado de ánimo, la memoria, la atención y la función motora. El mecanismo por el cual ocurre esta mejoría rápida y transitoria aun se desconoce con precisión, pero se propone que depende de su rápida penetración al LCR y a su absorción a través de tanicos periventriculares.<sup>92</sup> Aun se requieren más estudios con nivel amplio de evidencia, aunque el efecto antiinflamatorio quedó bien demostrado en pacientes con dolor crónico por radiculopatía espinal, al bloquear casi por completo el dolor luego de su aplicación periespinal.<sup>93</sup>

### **Antioxidantes**

Se han descrito el uso de diversos antioxidantes, tanto en estudios retrospectivos observacionales, como en estudios prospectivos abiertos, tales como la mitoquinona, vitamina E, ginkgo biloba, polifenoles naturales, tales como el té verde, vino tinto, mora azul, curcumina, ácidos grasos –como el omega 3–, folatos, vitaminas B6 y B12, sin evidencia de modificación de la EA.<sup>94</sup>

De todos éstos, la molécula que parecía ser un poco más prometedora en cuanto a posible retardo en el inicio de EA, es el resveratrol, encontrado en el vino tinto –derivada de la uva–. Los estudios básicos han demostrado que el resveratrol actúa activando una proteína llamada SIRT1, la cual remueve los compuestos acetilados de las células, involucrados en la progresión de la inflamación y en el envejecimiento.<sup>95</sup>

Otra molécula en investigación es un polifenol también derivado del vino tinto, llamada quercetina, la cual tiene acción directa en la modulación de la producción del A $\beta$ .<sup>96</sup> Ya hay varias publicaciones respecto a que la dieta mediterránea pudiera de algún modo disminuir o retardar el inicio de la EA, así como la enfermedad cardiovascular. En un estudio observacional que incluyó 1.5 millones de pacientes en un lapso de tres a 18 años, se observó disminución de riesgo relativo de 13% en comparación con controles.<sup>97</sup>

### **Estrógenos**

La hormona más intrigante son los estrógenos, en el caso de las mujeres, que es donde prevalece más la EA. Hay diversos trabajos a favor y en contra. Se describió en un estudio controlado, comparativo, a dos años, que en mujeres postmenopáusicas de la misma edad, con los mismos factores de riesgo para EA, las cuales dejaron de administrarse estrógenos, disminuyó el metabolismo cerebral de 1.8 a 3.8%, en regiones hipocampal, parietal y frontal, cuantificado por tomografía por emisión de positrones, en comparación con los controles.<sup>98</sup>

### **Insulina**

La observación epidemiológica de que la diabetes mellitus tipo 2 es un factor de riesgo importante para el desarrollo de deterioro cognitivo, y la reciente observación de una disminución de los niveles y actividad cerebral de la insulina (resistencia a la insulina) en pacientes con EA han llevado a proponer la utilización de insulina como alternativa terapéutica. En un estudio clínico piloto que probó dos dosis de insulina (20 o 40 UI) intranasal durante cuatro meses

en pacientes con deterioro cognitivo leve y EA se demostró mejoría en tareas de memoria retrasada y en las habilidades funcionales sin afectar los biomarcadores en el LCR y sin reportarse efectos colaterales significativos.<sup>99</sup> Estos resultados positivos impulsaron el inicio de nuevos estudios clínicos más amplios para comprobar la eficacia de dicho tratamiento.

### Estatinas

Los efectos de las estatinas en la EA son múltiples: han demostrado disminuir la formación de MNF, promueven la actividad de las alfa-secretasas disminuyendo la formación de A $\beta$ , tiene efectos anti-inflamatorios al actuar sobre la formación de óxido nítrico, inhiben la agregación plaquetaria, producen vasodilatación y finalmente reducen los factores de riesgo cardiovasculares asociados al deterioro cognitivo.<sup>100</sup>

En estudios clínicos en los que se utilizaron las estatinas en la prevención del deterioro cognitivo en más de 20,000 sujetos no se observó ningún beneficio. En el primer estudio piloto empleando estatinas en el manejo de la EA leve a moderada se observó un beneficio significativo en los primeros seis meses, lo cual dio pie a la realización de múltiples estudios multicéntricos que en conjunto representan más de 1,000 pacientes tratados, sin embargo, dichos efectos positivos no han podido ser replicados.<sup>101</sup>

### CONCLUSIONES

Resulta evidente que existe un esfuerzo mundial sin precedentes en la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas para el manejo de la EA. Sin embargo, el desarrollo terapéutico actual está centrado no sólo en nuevas terapias, sino en el desarrollo de terapias que ofrezcan la posibilidad modificar significativamente el curso de la enfermedad (terapias modificadoras), de manera que los estándares de eficacia y seguridad que deben cubrir las nuevas terapias son muy elevados. En relación con estos estándares todas las estrategias terapéuticas innovadoras están basadas en la modificación de uno o varios de los mecanismos fisiopatológicos implicados en la EA, de manera que como nunca antes la medicina traslacional ha cobrado especial relevancia. Las opciones de blancos terapéuticos se han diversificado extraordinariamente, sin embargo, los resultados de los estudios clínicos continúan siendo honestamente decepcionantes. Para algunos expertos estos resultados son suficientes para incluso replantear las hipótesis fisiopatológicas de la enfermedad, pero para otros sólo será necesario de incidir en una forma más temprana en los procesos patológicos de la enfermedad. Lo cierto es que al día de hoy continuamos sin un tratamiento modificador de la enfermedad que ofrezca suficiente eficacia y seguridad. Los estudios preclínicos sugieren interesantes y prometedores blancos terapéuticos para el futuro, pero una vez más habrá que esperar a los resultados de los estudios clínicos en donde la mayoría de los tratamientos potencialmente modificadores han fracasado.

### DECLARACIÓN DE CONFLICTOS DE INTERÉS

No existen potenciales conflictos de interés para ninguno de los autores en este informe científico.

### FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Los autores no han declarado fuente alguna de financiamiento para este informe científico.

### REFERENCIAS

1. Christensen K, Doblhammer G, Rau R, Vaupel JW. Ageing populations: the challenges ahead. *Lancet* 2009; 374: 1196-208.
2. Mayeux R, Stern Y. Epidemiology of Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012; 2: a006239.
3. Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 2005; 366: 2112-17.
4. Alvarado-Esquivel C, Hernández-Alvarado AB, Tapia-Rodríguez RO, Guerrero-Iturbe A, Rodríguez-Corral K, Martínez SE. Prevalence of dementia and Alzheimer's disease in elders of nursing homes and a senior center of Durango City, Mexico. *BMC Psychiatry* 2004; 4: 3.
5. Mejía-Arango S, Miguel-Jáimes A, Villa A, Ruiz-Arregui L, Gutiérrez-Robledo LM. Deterioro cognoscitivo y factores asociados en adultos mayores en México. *Salud Pública Mex* 2007; 49(Supl. 4): S475-S481.
6. Llubre-Rodríguez JJ, Ferri CP, Acosta D, Guerra M, Huang Y, Jacob KS, et al. Prevalence of dementia in Latin America, India, and China: a population-based cross-sectional survey. *Lancet* 2008; 372: 464-74.
7. Vellas B, Andrieu S, Sampaio C, Wilcock G, Disease-modifying trials in Alzheimer's disease: a European task force consensus. *Lancet Neurol* 2007; 6: 56-62.
8. Cummings JL. Defining and labeling disease-modifying treatments for Alzheimer's Disease. *Alzheimer & Dementia* 2009; 5: 406-18.
9. Hardy J, Allsop D. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends Pharm Sci* 1991; 12: 383-8.
10. Hardy J, Higgins GA, Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis, *Science* 1992; 286: 184-5.
11. Eckman CB, Eckman EA. An update on amyloid hypothesis. *Neurol Clin* 2007; 25: 669-82.
12. Perl DP. Neuropathology of Alzheimer Disease. *Mount Sinai J Med* 2010; 77: 32-42.
13. Vetrivel KS, Thinakaran G. Amyloidogenic processing of  $\beta$ -amyloid precursor protein in intracellular compartments. *Neurology* 2006; 66 (Suppl. 1): S69-S73.
14. Postina G. A Closer look at  $\alpha$ -secretase. *Curr Alzheimer Res* 2008; 5: 179-86.
15. Nathalie P, Jean-Noel O. Processing of amyloid precursor protein and amyloid peptide neurotoxicity. *Curr Alz Res* 2008; 5: 92-9.
16. Canevari L, Clark JB, Bates TE.  $\beta$ -amyloid fragment 25-35 selectively decreases complex IV activity in isolated mitochondria. *FEBS Letters* 1999; 457: 131-4.
17. Lin H, Bhatia R, Lal R. Amyloid  $\beta$  protein forms ion channels: implications for Alzheimer's disease pathophysiology. *FASEB J* 2001; 15: 2433-44.
18. Rosales-Corral S, Tan DX, Reiter RJ, Valdivia-Velazquez M, Acosta-Martinez JP, Ortiz GG. Kinetics of the neuroinflammation-oxidative

- stress correlation in rat brain following the injection of fibrillar amyloid- $\beta$  onto the hippocampus in vivo. *J Neuroimmunol* 2004; 150: 20-8.
19. Butterfield DA, Reed T, Newman SF, Sultana R. Roles of amyloid  $\beta$ -peptide-associated oxidative stress and brain protein modifications in the pathogenesis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Free Rad Biol Med* 2007; 43: 658-77.
20. Parameshwaran K, Dhanasekaran M, Suppiranamiam V. Amyloid beta peptides and glutamatergic synaptic dysregulation. *Exp Neurol* 2008; 210: 7-13.
21. Puzzo D, Privitera L, Fa' M, Staniszewski A, Hashimoto G, Aziz F, Sakurai M, et al. Endogenous amyloid- $\beta$  is necessary for hippocampal synaptic plasticity and memory. *Ann Neurol* 2011; 69: 819-30.
22. Kern A, Behl C. The unsolved relationship of brain aging and late-onset Alzheimer disease. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1790: 1124-32.
23. Golde TE, Schneider LS, Koo EH. Anti- $\text{A}\beta$  therapeutics in Alzheimer's Disease: The need for a paradigm shift. *Neuron* 2011; 69: 203-13.
24. Maccioni RB, Farias G, Morales I, Navarrete L. The revitalized tau hypothesis on Alzheimer's disease. *Arch Med Res* 2010; 41: 226-31.
25. Avila J, Lucas JJ, Pérez M, Hernández F. Role of Tau Protein in both Physiological and Pathological Conditions. *Physiol Rev* 2004; 84: 361-84.
26. Ittner LM, Gotz J. Amyloid- $\beta$  and tau-a toxic pas de deux in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 2011; 12: 67-72.
27. Nelson PT, Braak H, Markesberry WR. Neuropathology and Cognitive Impairment in Alzheimer Disease: A Complex but Coherent Relationship. *J Neuropathol Exp Neurol* 2009; 68: 1-14.
28. Melov S, Adlard PA, Morten K, Johnson F, Golden TR, Hinerfeld D, et al. Mitochondrial Oxidative Stress Causes Hyperphosphorylation of Tau. *PLoS ONE* 2007; 2(6): e536. doi:10.1371/journal.pone.0000536.
29. Wyss-Coray T, Rogers J. Inflammation in Alzheimer disease- A brief review of the basic science and clinical literature. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012; 2: a006346.
30. Vlad SC, Miller DR, Kowall NW, Felson DT. Protective effects of NSAIDs on the development of Alzheimer disease. *Neurology* 2008; 70: 1672-7.
31. Katsel P, Tan W, Haroutunian V. Gain in brain immunity in the oldest-old differentiates cognitively normal from demented individuals. *PLoS One* 2009; 4: e7642.
32. Cunningham C, Wilcockson DC, Campion S, Lunnon K, Perry VH. Central and systemic endotoxin challenges exacerbate the local inflammatory response and increase neuronal death during chronic neurodegeneration. *J Neurosci* 2005; 25: 9275-84.
33. Mehta A, Prabhakar M, Kumar P, Deshmukh R, Sharma PL. Excitotoxicity: Bridge to various triggers in neurodegenerative disorders. *Eur J Pharmacol* 2013; 698: 6-18.
34. Danyzs W, Parsons CG. The NMDA receptor antagonist memantine as a symptomatological and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease: preclinical evidence. *Int J Geriatr Psychiatry* 2003; 18: S23-S32.
35. Frisardi V, Solfrizzi V, Imbimbo PB, Capurso C, D'Introno A, Colacicco AM, et al. Towards Disease-Modifying Treatment of Alzheimer's Disease: Drugs Targeting  $\beta$ -Amyloid. *Curr Alzheimer Res* 2010; 7: 40-55.
36. Siemers E, Skinner M, Dean RA, Gonzales C, Satterwhite J, Farlow M, et al. Safety, tolerability, and changes in amyloid  $\beta$  concentrations after administration of a  $\gamma$ -secretase inhibitor in volunteers. *Clin Neuropharmacol* 2005; 28: 126-32.
37. Siemers ER, Dean RA, Friedrich S, Ferguson-Sells L, Gonzales C, Farlow MR, et al. Safety, tolerability, and effects on plasma and cerebrospinal fluid amyloid- $\beta$  after inhibition of  $\gamma$ -secretase. *Clin Neuropharmacol* 2007; 30: 317-25.
38. Fleisher AS, Raman R, Siemers ER, Becerra L, Clark CM, Dean RA, et al. Phase 2 safety trial targeting amyloid  $\beta$  production with a  $\gamma$ -secretase inhibitor in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2008; 65: 1031-8.
39. Cummings J. What Can Be Inferred from the Interruption of the Semagacestat Trial for Treatment of Alzheimer's Disease? *Biol Psychiatry* 2010; 68: 876-8.
40. Wilcock GK, Black SE, Hendrix SB, Zavitz KH, Swabb EA, Laughlin MA. Tarenfluril Phase II Study investigators. Efficacy and safety of tarenfluril in mild to moderate Alzheimer's disease; a randomised phase II trial. *Lancet Neurol* 2008; 7: 483-93.
41. Borgegard T, Juréus A, Olsson F, Rosqvist S, Sabirsh A, Rotticci D, et al. First and second generation  $\gamma$ -secretase modulators (GSMs) modulate amyloid- $\beta$  ( $\text{A}\beta$ ) peptide production through different mechanisms. *J Biol Chem* 2012; 287: 11810-9.
42. Ghosh AK, Gemma S, Tang J. Beta-Secretase as a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics* 2008; 5: 399-408.
43. Strobel G. Keystone Drug News: CoMentis BACE Inhibitor Debuts 2008. Disponible en: <http://www.alzforum.org/new/detail.asp?id=1790>
44. Hu X, Hicks CW, He W, Wong P, Macklin WB, Trapp BD, Yan R. Bace1 modulates myelination in the central and peripheral nervous system. *Nat Neurosci* 2006; 9: 1520-5.
45. Willem M, Garratt AN, Novak B, Citron M, Kaufmann S, Rittger A, DeStrooper B, et al. Control of peripheral nerve myelination by the beta-secretase BACE1. *Science* 2006; 314: 664-6.
46. Nitsch RM, Deng M, Tennis M, Schoenfeld D, Growdon JH. The selective muscarinic M1 agonist AF102B decreases levels of total  $\text{A}\beta$  in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2000; 48: 913-18.
47. Galimberti D, Ghezzi L, Scarpini E. Immunotherapy against amyloid pathology in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 2013 doi.org/10.1016/j.jns.2012.12.013.
48. Winblad B, Andreasen N, Minthon L, Floesser A, Imbert G, Dumortier T, et al. Safety, tolerability, and antibody response of active  $\text{A}\beta$  immunotherapy with CAD106 in patients with Alzheimer's disease: randomised, double-blind, placebo-controlled, first-in-human study. *Lancet Neurol* 2012; 11: 597-604.
49. Davtyan H, Ghochikyan A, Petrushina I, Hovakimyan A, Davtyan A, Poghosyan A, et al. Immunogenicity, Efficacy, Safety, and Mechanism of Action of Epitope Vaccine (Lu AF20513) for Alzheimer's Disease: Prelude to a Clinical Trial. *J Neurosci* 2013; 33: 4923-34.
50. Bard F, Cannon C, Barbour R, Burke RL, Games D, Grajeda H, et al. Peripherally administered antibodies against amyloid beta-peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Nat Med* 2000; 6: 916-19.
51. DeMattos RB, Bales KR, Cummins DJ, Dodart JC, Paul SM, Holtzman DM. Peripheral anti- $\text{A}$  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. USA* 2001; 98: 8850-5.
52. Salloway S, Sperling R, Keren R, Porsteinsson AP, van Dyck CH, Tariot PN, et al. A phase 2 randomized trial of ELND005, scyllo-inositol, in mild to moderate Alzheimer disease. *Neurology* 2011; 77: 1253-62.
53. Sperling R, Salloway S, Brooks DJ, Tampieri D, Barakos J, Fox NC, et al. Amyloid-related imaging abnormalities in patients with Alzheimer's disease treated with bapineuzumab: a retrospective analysis. *Lancet Neurol* 2012; 11: 241-9.
54. Rinne JO, Brooks DJ, Rossor MN, Fox NC, Bullock R, Klunk WE, et al. 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: 363-72.
55. Roher AE, Cribbs DH, Kim RC, Maarouf CL, Whiteside CM, et al. Bapineuzumab Alters A $\beta$  Composition: Implications for the Amyloid Cascade Hypothesis and Anti Amyloid Immunotherapy. *PLoS ONE* 2013; 8(3): e59735.
56. Farlow M, Arnold SE, van Dyck CH, Aisen PS, Snider BJ, Porsteinsson AP, et al. Safety and biomarker effects of solanezumab in patients with Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2012; 8: 261-71.
57. Shimada M, Abe S, Takahashi T, Shiozaki K, Okuda M, et al. Prophylaxis and Treatment of Alzheimer's Disease by Delivery of an Adeno-Associated Virus Encoding a Monoclonal Antibody Targeting the Amyloid Beta Protein. *PLoS ONE* 2013; 8(3): e57606
58. Dodel RC, Du Y, Depboylu C, et al. Intravenous immunoglobulins containing antibodies against beta-amyloid for the treatment of Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75: 1472-7.
59. Relkin NR, Szabo P, Adamiak B, et al. 18-month study of intravenous immunoglobulin for treatment of mild Alzheimer disease. *Neurobiol Aging* 2009; 30: 1728-36.
60. Weksler M, Szabo P, Relkin N. IVIG therapy of mild to moderate Alzheimer's disease patients showed significant benefits as measured by neuroimaging and neuropsychological testing in a phase II, randomized, double blind placebo controlled clinical study. *Gerontologist* 2010; 50: 449-50.
61. Dodel R, Rominger A, Bartenstein P, Barkhof F, Blennow K, Förster S, et al. Intravenous immunoglobulin for treatment of mild-to-moderate Alzheimer's disease: a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-finding trial. *Lancet Neurol* 2013; 12: 233-43.
62. Golde TE, Petrucci L, Lewis J. Targeting A $\beta$  and tau in Alzheimer's disease, an early interim report. *Exp Neurol* 2010; 223: 252-66.
63. Bush AI, Tanzi RE. Therapeutics for Alzheimer's disease based on the metal hypothesis. *Neurotherapeutics* 2008; 5: 421-32.
64. Lannfelt L, Blennow K, Zetterberg H, Batsman S, Ames D, Harrison J, et al. Safety, efficacy, and biomarker findings of PBT2 in targeting A $\beta$  as a modifying therapy for Alzheimer's disease: a phase IIa, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol* 2008; 8: 779-86.
65. Salloway S, Sperling R, Gilman S, Fox NC, Blennow K, Raskind M, et al. A phase 2 multiple ascending dose trial of bapineuzumab in mild to moderate Alzheimer disease. *Neurology* 2009; 73: 2061-70.
66. Zhang B, Maiti A, Shively S, Lakhani F, McDonald-Jones G, Bruce J, et al. Microtubule-binding drugs offset tau sequestration by stabilizing microtubules and reversing fast axonal transport deficits in a tauopathy model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 227-31.
67. Zhang B, Carroll J, Trojanowski JQ, Yao Y, Iba M, Potuzak JS, et al. The microtubule-stabilizing agent, epothilone D, reduces axonal dysfunction, neurotoxicity, cognitive deficits, and Alzheimer's-like pathology in an interventional study with aged tau transgenic mice. *J Neurosci* 2012; 32: 3601-11.
68. Brunden KR, Zhang B, Carroll J, Yao Y, Potuzak JS, Hogan AM, et al. Epothilone D improves microtubule density, axonal integrity, and cognition in a transgenic mouse model of tauopathy. *J Neurosci* 2010; 30: 13861-6.
69. Gold M, Lorenzl S, Stewart AJ, Morimoto BH, Williams DR, Gozes I. Critical appraisal of the role of davunetide in the treatment of progressive supranuclear palsy. *Neuropsychiatry Dis Treat* 2012; 8: 85-93.
70. Hanger DP, Anderton BH, Noble W. Tau phosphorylation: the therapeutic challenge for neurodegenerative disease. *Trends Mol Med* 2009; 15: 112-19.
71. Pei JJ, Grundke-Iqbali I, Iqbali K, Bogdanovic N, Winblad B, Cowburn RF. Accumulation of cyclin-dependent kinase 5 (cdk5) in neurons with early stages of Alzheimer's disease neurofibrillary degeneration. *Brain Res* 1998; 797: 267-77.
72. Kremer A, Louis JV, Jaworski T, Van Leuven F. GSK3 and Alzheimer's disease: facts and fiction. *Front Mol Neurosci* 2011; 4: 17.
73. Hurtado DE, Molina-Porcel L, Carroll JC, Macdonald C, Aboagye AK, Trojanowski JQ, et al. Selectively silencing GSK-3 isoforms reduces plaques and tangles in mouse models of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2012; 32: 7392-402.
74. Engel T, Goñi-Oliver P, Lucas JJ, Avila J, Hernández F. Chronic lithium administration to FTDP-17 tau and GSK-3 beta overexpressing mice prevents tau hyperphosphorylation and neurofibrillary tangle formation, but pre-formed neurofibrillary tangles do not revert. *J Neurochem* 2006; 99: 1445-55.
75. Forlenza OV, Diniz BS, Radanovic M, Santos FS, Talib LL, Gattaz WF. Disease-modifying properties of long-term lithium treatment for amnestic mild cognitive impairment: randomised controlled trial. *Br J Psychiatry* 2011; 198: 351-6.
76. Macdonald A, Briggs K, Poppe M, Higgins A, Velayudhan L, Lovestone S. A feasibility and tolerability study of lithium in Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry* 2008; 23: 704-11.
77. Hampel H, Ewers M, Bürger K, Annas P, Mörtberg A, Bogstedt A, et al. Lithium trial in Alzheimer's disease: a randomized, single-blind, placebo-controlled, multicenter 10-week study. *J Clin Psychiatry* 2009; 70: 922-31.
78. Gong CX, Shaikh S, Wang JZ, Zaidi T, Grundke-Iqbali I, Iqbali K. Phosphatase activity toward abnormally phosphorylated tau: decrease in Alzheimer disease brain. *J Neurochem* 1995; 65: 732-8.
79. Liu F, Grundke-Iqbali I, Iqbali K, Gong CX, Liu F. Contributions of protein phosphatases PP1, PP2A, PP2B and PP5 to the regulation of tau phosphorylation. *Eur J Neurosci* 2005; 22: 1942-50.
80. Choban MO, Khatoon S, Iqbal IG, Iqbali K. Involvement of I2PP2A in the abnormal hyperphosphorylation of tau and its reversal by memantine. *FEBS Lett* 2006; 580: 3973-9.
81. Liu F, Zaidi T, Iqbali K, Grundke-Iqbali I, Merkle RK, Gong CX. Role of glycosylation in hyperphosphorylation of tau in Alzheimer's disease. *FEBS Lett* 2002; 512: 101-6.

82. Wischik C, Staff R. Challenges in the conduct of disease-modifying trials in AD: practical experience from a phase 2 trial of tau-aggregation inhibitor therapy. *J Nutr Health Aging* 2009; 13: 367-9.
83. Berger Z, Ravikumar B, Menzies FM, Orosz LG, Underwood BR, Pangalos MN, et al. Rapamycin alleviates toxicity of different aggregate-prone proteins. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 433-42.
84. Chambraud B, Sardin E, Giustiniani J, Dounane O, Schumacher M, Goedert M, et al. A role for FKBp52 in tau protein function. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 2658-63.
85. Schaeffer V, Lavenir I, Ozcelik S, Tolnay M, Winkler DT, Goedert M. Stimulation of autophagy reduces neurodegeneration in a mouse model of human tauopathy. *Brain* 2012; 135: 2169-77.
86. Chin J, Palop JJ, Puoliväli J, Massaro C, Bien-Ly N, Gerstein H, et al. Fyn kinase induces synaptic and cognitive impairments in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2005; 25: 9694-703.
87. Hoover BR, Reed MN, Su J, Penrod RD, Kotilinek LA, Grant MK, et al. Tau mislocalization to dendritic spines mediates synaptic dysfunction independently of neurodegeneration. *Neuron* 2010; 68: 1067-81.
88. Sigurdsson EM. Immunotherapy targeting pathological tau protein in Alzheimer's disease and related tauopathies. *J Alzheimers Dis* 2008; 15: 157-68.
89. Rogers J, Kirby LC, Hempelman SR, Berry DL, McGeer PL, Kaszniak AW, et al. Clinical trial of indomethacin in Alzheimer's disease. *Neurology* 1993; 43: 1609-11.
90. Vellas B, Aisen P, Sampaio C, Carrillo M, Scheltens P, Scherrer B, et al. Prevention trials in Alzheimer's disease: an EU-US task force report. *Prog Neurobiol* 2011; 95: 594-600.
91. Tracey D, Klareskog L, Sasso EH, Salfeld JG, Tak PP. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review. *Pharmacol Ther* 2008; 117: 244-79.
92. Tobnick E. Deciphering the Physiology Underlying the Rapid Clinical Effects of Perispinal Etanercept in Alzheimer's Disease. *Curr Alzh Res* 2012; 9: 99-109.
93. Tobinick, E. Perispinal etanercept: a new therapeutic paradigm in neurology. *Expert Rev Neurother* 2010; 10: 985-1002.
94. Griffin, W. Inflammation and neurodegenerative diseases. *Am J Clin Nutr* 2006; 3(Suppl.): 470-4.
95. Hubbard, B. Evidence for a Common Mechanism of SIRT1 Regulation by Allosteric Activators. *Science* 2013; 339, 6124: 1216-19.
96. Ho L, Ferruzzi MG, Janle EM, Wang J, Gong B, Chen TY, et al. Identification of brain-targeted bioactive dietary quercetin-3-O-glucuronide as a novel intervention for Alzheimer's disease. *FASEB J* 2013; 27: 769-81.
97. Lövdén M, Xu W, Wang HX. Lifestyle change and the prevention of cognitive decline and dementia: what is the evidence? *Curr Opin Psychiatry* 2013; 26: 239-43.
98. Schindler, T. PET scans reveal hormone replacement therapy may be beneficial for menopausal women. *Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2008 Annual Meeting. June 16, 2008.
99. Craft S, Baker L, Montine TJ, Minoshima S, Watson S, Claxton A, et al. Intranasal Insulin Therapy for Alzheimer Disease and Amnestic Mild Cognitive Impairment A Pilot Clinical Trial. *JAMA Neurol* 2012; 69: 29-38.
100. Kandiah N, Feldman HH. Therapeutic potential of statins in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 2009; 283: 230-4.
101. Feldman HH, Doody RS, Kivipelto M, Sparks L, Waters DD, Jones RW, et al. Randomized controlled trial of atorvastatin in mild to moderate Alzheimer disease. *Neurology* 2010; 74: 956-64.