

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Cien años de la enfermedad de Alzheimer. La inmunoterapia ¿una esperanza?

María Isabel Behrens P^{1,3}, Fernando Vergara E^{2,3}.

One hundred years of Alzheimer's disease. Immunotherapy a hope?

In 1906 Alois Alzheimer, described the cerebral lesions characteristic of the disorder that received his name: senile plaques and neurofibrillary tangles. Alzheimer's disease (AD) is now, 100 years after, the most prevalent form of dementia in the world. The longer life expectancy and aging of the population renders it as a serious public health problem of the future. Urgent methods of diagnosis and treatment are required, since the definitive diagnosis of AD continues to be neuropathologic. In the last 30 years several drugs have been approved to retard the progression of the disease; however, there are still no curative or preventive treatments. Although still in experimentation, the visualization of amyloid deposition by positron emission tomography or magnetic resonance imaging will allow in vivo diagnosis of AD. In addition, experiments with the amyloid vaccine are still ongoing, and very recent data suggest that intravenous gammaglobulins may be beneficial and safe for the treatment of AD (Rev Méd Chile 2007; 135: 99-106).

(Key words: Alzheimer disease; Immunoglobulins, intravenous; Positron-emission tomography; Senile plaques)

Recibido el 7 de marzo, 2006. Aceptado el 22 de junio, 2006.

¹Departamento de Neurología y Neurocirugía, Hospital Clínico Universidad de Chile. ²Universidad de Los Andes y ³Clinica Alemana de Santiago.

Demencia se define como una falla adquirida y progresiva de la función cerebral, que produce gradualmente una incapacidad en las actividades de la vida del individuo. La enfermedad de Alzheimer es la forma de demencia más prevalente en todo el mundo, correspondiendo aproximadamente a 50%-60% de todas las demencias¹. Fue

descrita en 1906 por Alois Alzheimer², que describió el cuadro clínico de Augusta D, una paciente de 51 años internada en un asilo por su marido, por la imposibilidad de cuidarla en la casa. La paciente tenía olvidos, se perdía en el vecindario, había perdido la capacidad de realizar las labores domésticas y presentaba celos de su marido. Alzheimer tuvo la sagacidad de darse cuenta que, a diferencia de otros pacientes en la institución, la paciente tenía fallas de memoria; no lo reconoció al salir de la consulta y volver pocos minutos después. Al fallecer la paciente, Alzheimer realizó

Correspondencia a: Dra. María Isabel Behrens P. Departamento de Neurología y Neurocirugía, Hospital Clínico Universidad de Chile. Santos Dumont 999, Santiago, Chile. CP 6531063. Fax: (2) 737 8546. E mail: mbehrens@redclinicauchile.cl

la anatomía patológica del cerebro, utilizando las nuevas técnicas de tinción de plata, y describió las alteraciones cerebrales características de la enfermedad; placas seniles y ovillos neurofibrilares.

Durante la primera mitad del siglo XX, la enfermedad de Alzheimer se consideraba una forma rara de demencia presenil, hasta que se observó que el cerebro de la mayoría de los pacientes con demencia tenía numerosas placas y ovillos, por lo tanto, lo que se llamaba «arteriosclerosis» o «demencia senil» era en realidad enfermedad de Alzheimer³. Durante la década 1980-89, se logró la purificación de los componentes de las

placas seniles y ovillos neurofibrilares, lo que fue dificultoso por su insolubilidad. El componente principal extraído de la placa senil fue el péptido beta amiloide (βA), un péptido de 40 a 42 aminoácidos. El componente principal del ovillo neurofibrilar fue la proteína tau, que estabiliza los microtúbulos y así participa en la progresión axoplásmica celular. Estos dos componentes determinaron las dos vías principales de investigación sobre EA en las últimas décadas. Actualmente, la hipótesis más aceptada es la hipótesis del amiloide (Figura 1), que postula que el elemento principal y primario de la EA es el βA, que determina la

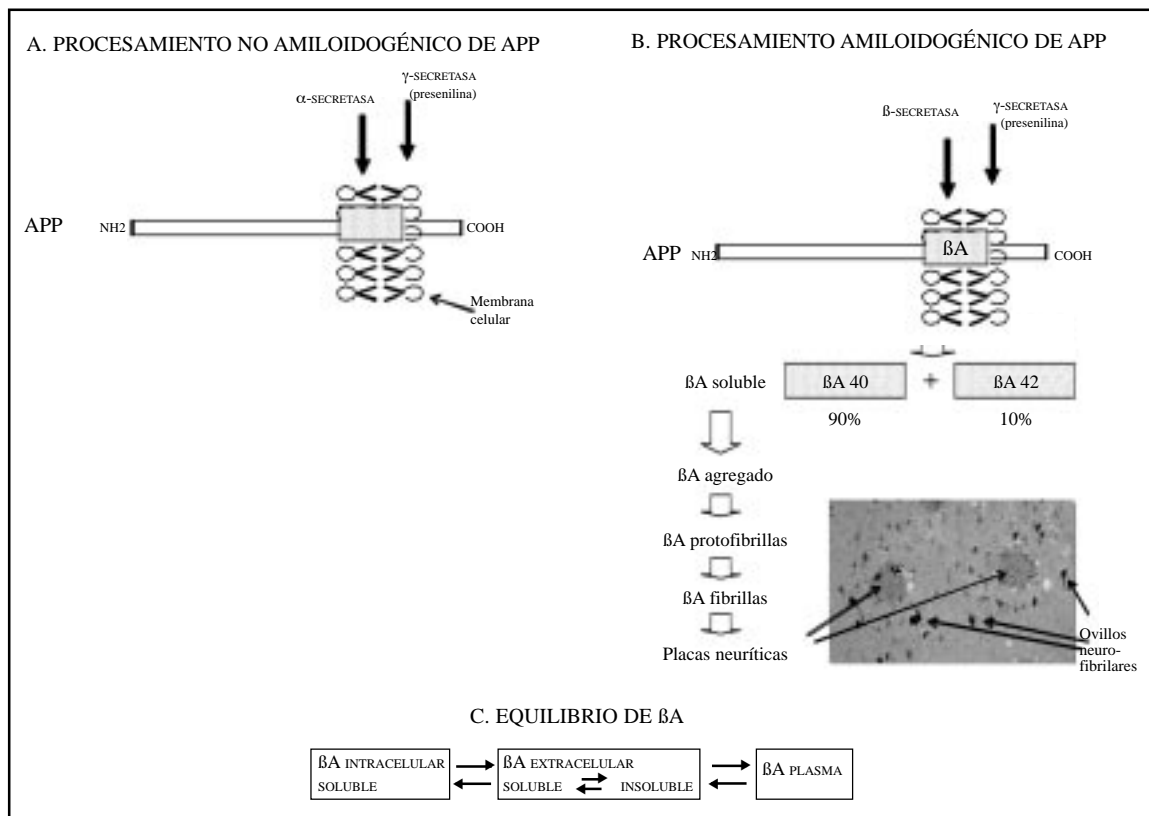


Figura 1. La hipótesis del amiloide. El procesamiento normal de la proteína precursora del amiloide (APP) tiene dos vías alternativas, la primera (A) en que actúa inicialmente la α secretasa, seguida de la γ secretasa que no lleva a la formación de βA (vía no amiloidogénica), y la segunda (B), en que primero actúa β secretasa y luego γ secretasa y lleva a la formación de βA (vía amiloidogénica). La γ secretasa puede hacer un corte en APP produciendo un péptido βA de 40 aminoácidos (βA₁₋₄₀) o de 42 aminoácidos (βA₁₋₄₂). Ambas vías de procesamiento del APP, amiloidogénica y no amiloidogénica ocurren normalmente y el βA formado (βA₁₋₄₀ y βA₁₋₄₂) están en equilibrio entre el espacio intracelular, extracelular (intersticial y LCR) y el plasma (C). En condiciones de aumento de cantidad de βA, especialmente el βA₁₋₄₂ que es más amiloidogénico, se produce agregación de oligómeros, protofibrillas y fibras de βA₁₋₄₂, que se depositan en el espacio extracelular formando las placas seniles o neuríticas.

disfunción sináptica y celular, el depósito de tau, la inflamación y finalmente la muerte neuronal⁴. Hay que mencionar, sin embargo, que algunos autores han planteado que el depósito de β A podría tener un efecto protector, actuando como biofloculante que atrapa toxinas, especialmente iones metálicos⁵. Que la acumulación de β A pudiera ser una respuesta fisiológica a la injuria, es sugerido por la acumulación de él en el traumatismo craneoencefálico⁶.

El factor de riesgo más importante de EA es la edad. La prevalencia de la enfermedad se duplica cada 5 años después de los 65 años. Según estadísticas de Estados Unidos de Norteamérica, se estima que está presente en aproximadamente en 1% a 3% de la población a los 65 años de edad y aumenta hasta 30% a 50% en los mayores de 85 años⁷. En Chile hay pocos datos estadísticos sobre demencia. En un estudio de prevalencia en mayores de 65 años en la VII región (Chile central), se encontró una prevalencia de EA de 5,86% [Quiroga P. Dementia Prevalence in Concepción, Chile. Dementia Project WHO-Chile. World Congress of Geriatrics and Gerontology 1997. Adelaide]. Según el Censo 2002, en Chile hay 1.217.576 adultos mayores de 65 años⁸; si la prevalencia observada en la VII región se aplica al país entero, en Chile habría entre 60.000 y 120.000 casos de demencia.

Investigación en técnicas de diagnóstico de EA. El diagnóstico definitivo de la EA es anatomopatológico, es decir se requiere la presencia de un número dado de placas de amiloide y ovillos neurofibrilares en cortes de microscopía para establecer definitivamente que la demencia es de Alzheimer. Clínicamente, se hace el diagnóstico de demencia tipo Alzheimer, basado en la historia de la enfermedad, confirmada por un acompañante que conoce bien al paciente. El diagnóstico es apoyado por baterías de tests neuropsicológicos que demuestren que hay un deterioro cognitivo y que éste no es debido a depresión. Además, se requiere de exámenes de laboratorio e imágenes que permitan descartar causas reversibles de demencia. Por lo general, se recomienda tomar una imagen cerebral (*scanner* o resonancia magnética) y realizar exámenes de sangre que permitan descartar causas frecuentes de falla de memoria como hipotiroidismo, déficit de vitamina B12, infecciones del SNC, etc. No existen hasta el

momento exámenes específicos de laboratorio ni imágenes que permitan confirmar la EA en vida. A pesar de ello, la correlación entre diagnóstico clínico y patológico es bastante satisfactoria (83%)⁹. De acuerdo a la Academia Americana de Neurología¹⁰, no se recomienda la determinación de ApoE 4, ni estudiar las mutaciones de ADN conocidas en EA familiar.

Hay varias investigaciones en curso para tratar de encontrar un método adecuado de diagnóstico de EA. Se está investigando la medición de la relación entre los niveles de β A y tau en LCR¹¹. Otra área de investigación intensa es en imágenes. Las mediciones del volumen de los hipocampos o de los diferentes lóbulos cerebrales, y de la progresión de esta atrofia en el tiempo es materia de intensa investigación^{12,13}. Sin embargo, estos estudios son costosos en tiempo y personal, ya que si son automatizados requieren de *software* específico y si son realizados manualmente requieren de mucho tiempo.

Lo que parece más prometedor entre las diversas investigaciones en imágenes,

son los estudios de visualización de amiloide *in vivo*. Recientemente se reportó los resultados de visualización de amiloide en pacientes con EA, usando un compuesto llamado compuesto PIB (*Pittsburg Compound B*). Este compuesto se une al $A\beta$ y, al ser radiactivo, es «visible» por tomografía de emisión de positrones (PET)¹⁴. Aún más, en experimentos con ratas, se estudia un ligando de amiloide que se puede visualizar por resonancia magnética¹⁵. Las imágenes por PET son de baja resolución, por eso, la posibilidad de contar con una técnica de visualización de amiloide por resonancia magnética es muy interesante, ya que ésta tiene buena resolución en la zona entorrinal, la primera en afectarse en la EA.

El uso combinado de mediciones en LCR de tau y $A\beta_{1-42}$, (el $A\beta$ de 42 aminoácidos de longitud, que se asocia a mayor toxicidad), junto a marcación de amiloide con PIB puede que en el futuro resulte ser de mejor rendimiento para el diagnóstico de la EA. Los niveles tau fosforilado aumentan y los niveles de $A\beta_{1-42}$ disminuyen en el LCR cuando la EA está presente. Se plantea que el $A\beta_{1-42}$ disminuye en LCR porque las placas neuríticas en el cerebro actuarían como sumideros de $A\beta$. En un estudio reciente¹⁶ se mostró que aquellos pacientes que tenían alta marcación de

producto PIB tenían bajos niveles de $A\beta_{1-42}$, y al revés, aquellos con bajos niveles de PIB tenían niveles más altos de $A\beta_{1-42}$ en el LCR.

Estas técnicas no están disponibles aún para la práctica clínica, pero parecen muy promisorias para poder realizar el diagnóstico de EA en vida, y más aún, para el diagnóstico precoz de la enfermedad, con la sensibilidad y especificidad requeridas¹⁷. Interesantemente en el trabajo arriba mencionado¹⁶ había sujetos sin deterioro cognitivo con marcación de PIB y valores de $A\beta_{1-42}$ en niveles comparables al de los pacientes con deterioro cognitivo, apoyando la idea de una etapa preclínica de la EA. Cada vez más se acepta la hipótesis de que la presencia de placas de amiloide en pacientes sin deterioro cognitivo representa una etapa preclínica de la enfermedad y no, como se pensaba antes, que es un evento inespecífico. Se sabe, por los estudios en pacientes con enfermedad de Down, que las placas neuríticas y los ovillos neurofibrilares se depositan varios años antes del inicio clínico de la demencia (EA preclínico). La posibilidad de establecer la presencia de las lesiones antes del desarrollo de demencia, permitiría, cuando se disponga de un tratamiento efectivo, iniciarlo precozmente y evitar la aparición de los síntomas. Como el PIB es específico para $A\beta$, no habría problemas de diagnóstico diferencial con otras enfermedades demenciantes que se caracterizan por depósito de amiloide como por ejemplo las enfermedades por priones.

¿Para qué desarrollar técnicas de diagnóstico precoz de EA si no existe tratamiento curativo? Actualmente, no se justifica hacer un diagnóstico preclínico de EA, aun si se puede, por ejemplo en EA familiar. En estos casos, la presencia de una de las mutaciones conocidas causantes de EA, en el gen de la proteína precursora del amiloide (APP, en el cromosoma 21), en el gen de la presenilina 1 (cromosoma 14), o en el gen de la presenilina 2 (cromosoma 1), significa que la enfermedad se va a desarrollar tarde o temprano, ya que son autónomo dominante con 100% de penetración¹⁸. Como no disponemos de un tratamiento curativo que ofrecer una vez conocido el diagnóstico, y esto puede ser muchos años antes de la manifestación clínica de la enfermedad, no se recomienda su detección. Pero es importante estar preparado para hacer un diagnóstico preciso y

precoz de EA, pues dado el avance en las posibilidades de tratamiento, no está lejos el momento de contar con tratamientos efectivos de la EA y cuanto antes se haga el diagnóstico y se inicie el tratamiento, mejor será la preservación de las capacidades cognitivas.

Nuevas posibilidades terapéuticas en EA. Existen varias líneas de investigación en busca de tratamiento para EA¹⁹. Entre ellas destaca la búsqueda de inhibidores de las enzimas que forman el βA ^{20,21}. Estas enzimas participan en la formación del βA a partir de APP, una proteína de membrana de función desconocida. Existen dos vías normales de procesamiento de APP (Figuras 1 A y B), una en la cual actúa α secretasa y luego γ secretasa y no se forma βA (Figura 1A), y otra en que primero actúa β secretasa y luego γ secretasa y sí se forma βA (Figura 1B). Todos tenemos ciertos niveles de βA en el plasma y en el LCR tanto de $A\beta_{1-40}$ como de $A\beta_{1-42}$; la acumulación exagerada y agregación de βA sería lo que desencadena la cascada de eventos que determinan la EA. Bajo la suposición de que esta hipótesis es correcta, si se lograra inhibir la actividad de las enzimas β y γ secretasas, o estimular a la α secretasa (que impide la formación del βA), se evitaría la acumulación del amiloide y así el desarrollo de la enfermedad. Debido a que la γ secretasa normalmente participa en muchas funciones celulares, que si son inhibidas podrían acarrear efectos secundarios importantes, el uso de inhibidores de esta enzima parece más lejano como posible tratamiento por ahora.

También se investiga sobre inhibidores de la agregación del βA ²². En la investigación sobre el uso de inhibidores de agregación destaca el trabajo de Claudio Soto, un chileno que trabaja en el desarrollo de moléculas capaces de inhibir la agregación de péptidos beta plegados²³. Otra línea de investigación es el uso de quelantes de βA , moléculas que se unen al βA y facilitan su eliminación²².

Lo más novedoso y prometedor en relación a nuevas terapias para combatir la EA es el avance en inmunoterapia. Los primeros pasos en inmunoterapia comenzaron en la década 1990-99 del razonamiento simple e ingenio: si el $A\beta$ es el factor tóxico, la administración de una vacuna que indujera formación de anticuerpos antiamiloides

sería protectora. Primero se demostró que las ratas forman anticuerpos antiamiloides por vacunación con A β . Luego, se vacunó a ratas «modelo» de EA. Las ratas de laboratorio no sufren espontáneamente de EA (excepto el *Octogon degu*, una rata chilena que desarrolla depósitos de amiloide con la vejez²⁴). Como modelo de EA se utiliza ratas transgénicas con uno de los genes mutados de EA humano, que forman placas de amiloides en el cerebro y presentan fallas de memoria. La vacuna con β A produjo anticuerpos anti β A y una notable disminución del número de placas de amiloide en el cerebro de las ratas transgénicas²⁵. Los autores demostraron que la vacunación no sólo evitaba la formación de placas en ratas jóvenes, sino que lograba eliminar placas preexistentes en ratas viejas. Esto indica que el depósito de β A es un fenómeno dinámico, con la posibilidad de entrada y salida de β A a la placa senil, y por lo tanto de formación y desaparición de placas (Figura 1C).

Las ratas transgénicas vacunadas mostraron mejoría en pruebas de memoria^{26,27}, como aprender a encontrar una plataforma en una piscina. Había correlación entre la reducción del número de placas y la mejoría en las pruebas de función cognitiva. Aún más, la vacunación pasiva, es decir la inyección directa de anticuerpos anti β A₄₂ también mostró utilidad²⁸.

Estos resultados tan promisorios en animales determinaron el rápido inicio de ensayos clínicos en el año 2000. Se inició la inyección del compuesto AN1792, que consistía en β A₄₂. Luego de completar la fase I de seguridad y tolerabilidad se inició en 2001 la fase IIa para evaluar seguridad, tolerabilidad y eficacia piloto, con 80% de los pacientes recibiendo el principio activo y 20% placebo. Sin embargo, en enero de 2002 se debió suspender el estudio por casos de meningoencefalitis. Es probable que la premura y exceso de entusiasmo hayan influido en el fracaso de estos ensayos. En total, se reportaron 18 casos de meningoencefalitis de un total de 300 individuos vacunados (6%), entre 16-100 días después la vacunación, todos en pacientes que habían recibido el principio activo^{29,30}. No hubo casos de meningoencefalitis en el grupo placebo. De 18 pacientes afectados, 12 se recuperaron sin secuelas y 6 quedaron con secuelas neurológicas. Al analizar los niveles de anticuerpos generados, se pudo observar que no había correlación entre títulos de

anticuerpos y la severidad de la meningoencefalitis, sugiriendo que ésta no es consecuencia directa de la formación de los anticuerpos.

En uno de los pacientes que desarrolló meningoencefalitis y falleció de una embolia pulmonar un año después, se realizó la anatomía patológica del cerebro. Se encontró meningoencefalitis aséptica por desarrollo de inmunidad celular. Pero interesantemente, el cerebro de esta paciente que había formado anticuerpos anti β A tenía mucha menos placas seniles que las que corresponderían por su edad y severidad de la demencia³¹. En algunas regiones cerebrales libres de placas neuríticas había inmunomarcación de β A asociada a microglia, sugiriendo actividad fagocítica de estas células. Otro caso que llegó a anatomía patológica mostró similares resultados³². Se plantea que el mecanismo de la meningoencefalitis es el desarrollo de inmunidad celular, y por lo tanto, evitando el desarrollo de este tipo de inmunidad se podrían lograr los efectos benéficos de la inmunoterapia para la EA^{31,33}. La investigación sigue en curso. Hay ensayos de vacunación activa con una fracción del péptido amiloide más corto, el A β ₄₋₁₀, que estimula sólo la inmunidad humoral ya que no contiene los epítopes que desarrollan inmunidad celular³⁴. Se está estudiando además el efecto de vacunación pasiva.

¿Qué efecto tiene la vacuna sobre la cognición en los pacientes? En un subgrupo de 30 pacientes del estudio abortado de vacunación con A β ₁₋₄₂, Hock et al reportaron una disminución del deterioro cognitivo en los pacientes vacunados que formaron anticuerpos^{35,36}. Sin embargo, en el primer reporte del seguimiento de los 300 pacientes que participaron en el estudio de vacunación contra EA los resultados no fueron tan promisorios³⁷. Se monitoreó a todos los pacientes al menos 9 meses después de la última dosis de vacuna, manteniendo el ciego. Se encontró un pequeño beneficio cognitivo demostrado sólo en los tests neuropsicológicos; no en la evaluación clínica de demencia. Lo más sorprendente fue el análisis de las imágenes neurorradiológicas que, por volumetría estándar, mostraron una disminución de volumen del cerebro de los pacientes vacunados mayor que la de los que recibieron placebo³⁸. Esto es al revés de lo esperado, y los autores especulan que podría deberse a una disminución de agua, porque las placas son

osmóticamente activas, o a una disminución de la reactividad de la astrogliia, que se caracteriza por edema celular. El mecanismo fisiopatológico para explicar la remoción del A β del cerebro por la vacuna no se conoce con certeza. Podría ser por drenaje de A β al plasma y luego degradación de éste por anticuerpos en sangre (Figura 1C). Otro mecanismo podría ser fagocitosis de la placa senil por microglia activada.

Si la vacunación pasiva de anticuerpos antiA β demostró ser útil, y si se sabe que normalmente existen anticuerpos antiA β en el suero normal, la pregunta siguiente fue: ¿Sería útil la inyección de inmunoglobulinas para tratar la EA? El sistema inmune normalmente produce anticuerpos que pueden eliminar parte del A β . Pero los adultos mayores producen 1/3 menos anticuerpos antiA β que los individuos más jóvenes. Las inmunoglobulinas que se recolectan de voluntarios normales tendrían suficientes anticuerpos antiA β para eliminar el A β en la sangre, y así ir drenando el del cerebro y permitiendo el funcionamiento normal de las células cerebrales. La inmunización pasiva amplia a través del uso de inmunoglobulinas tendría la ventaja de obviar la respuesta inmune activa que en el adulto mayor pierde eficacia, y por otra parte se evitaría la respuesta tóxica de la inmunización activa.

En 2004, Dodel et al reportaron que la inyección de inmunoglobulinas conteniendo anticuerpos antiA β tiene un efecto cognitivo beneficioso en pacientes con EA³⁹. Administraron IGEV mensualmente a las dosis habituales a 5 pacientes con EA y al cabo de 6 meses midieron los niveles de A β en plasma y LCR y la función cognitiva. En 4 de 5 pacientes los test neuropsicológicos (CERAD y ADAS Cog) mejoraron y en un caso se estabilizaron, lo que contrasta con el deterioro que normalmente se encuentra en estos tests después de 6 meses de evolución de EA. El ADAS Cog empeora en promedio 4-6 pts/año en pacientes EA en tratamiento con anticolinesterásicos. En cambio, en los pacientes tratados con IGEV se obtuvo una mejoría de 2 a 8 puntos en la mayoría de ellos. Además, los niveles de A β de plasma aumentaron y los de LCR disminuyeron significativamente después de 6 meses de tratamiento con IGEV.

En el 57º Congreso de la Academia Americana de Neurología de abril 2005, otro grupo de investigadores mostró resultados en 8 pacientes con EA tratados con IGEV durante 6 meses⁴⁰. En 7 de los 8 pacientes hubo mejoría en la función cognitiva; ninguno de ellos sufrió deterioro funcional. A partir del segundo mes de tratamiento el A β en LCR disminuyó en 45%. No se sabe el mecanismo de funcionamiento, se plantea que los anticuerpos movilizan beta amiloide del fluido cerebroespinal hacia el torrente sanguíneo.

Hasta el momento, el tratamiento con IGEV sólo ha sido probado en 13 pacientes, y es prematuro aventurar sus beneficios a largo plazo. Es necesario confirmar estos resultados en ensayos clínicos controlados con mayor número de pacientes y por un tiempo más prolongado. Sin embargo, el tratamiento con IGEV es un tratamiento ya conocido que se utiliza en distintas otras patologías y con relativas pocas complicaciones. Por lo tanto, es posible que estemos ante una posibilidad de tratamiento seguro para eliminar el beta amiloide y si la hipótesis del A β es correcta, de tratar la EA. Por eso es importante contar con técnicas de diagnóstico precoz de EA. Es posible imaginarse que en un futuro cercano, como parte del examen físico de las personas mayores de 50 años anual se indique una imagen cerebral para medir la «carga de placas de amiloide» y posiblemente indicar inmunoterapia activa en etapas iniciales de la enfermedad y si no se observa respuesta, bien podrían utilizarse los anticuerpos previamente preparados.

Como curiosa coincidencia, el mismo año que Wilhelm Conrad Röntgen recibiera el Premio Nobel de Física por el descubrimiento de los rayos X en 1901, Emil von Behring recibía el Premio Nobel de Medicina por sus trabajos en la terapia con suero, que fue el origen de la inmunoterapia. Así, cuando se cumplen 100 años de la enfermedad que describiera Alois Alzheimer en 1906, y de que se descubriera el diagnóstico médico por imágenes y la terapia con suero, parece que estamos ante una posibilidad seria de tener un tratamiento significativo para esta enfermedad.

REFERENCIAS

1. FERRI CP, PRINCE M, BRAYNE C, BRODATY H, FRATIGLIONI L, GANGULI M ET AL. Alzheimer's Disease International. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 2005; 366: 2112-17.
2. ALZHEIMER A. Über einen eigenartigen schweren Erkrankungsprozess der Hirnrinde. *Neurologisches Centralblatt* 1906; 23: 1129-36.
3. BLESSED G, TOMLINSON BE, ROTH M. The association between quantitative measures of dementia and of senile change in the cerebral grey matter of elderly subjects. *Br J Psychiatry* 1968; 114: 797-811.
4. HARDY J. Has the Amyloid Cascade Hypothesis for Alzheimer's Disease been proved? *Curr Alzheimer Res* 2006; 3: 71-3.
5. ROBINSON SR, BISHOP GM. Abeta as a biofloculant: implications for the amyloid hypothesis of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2002; 23: 1051-72.
6. IKONOMIC MD, URYU K, ABRAHAMSON EE, CIALLELLA JR, TROJANOWSKI JQ, LEE VM ET AL. Alzheimer's pathology in human temporal cortex surgically excised after severe brain injury. *Exp Neurol* 190: 192-203. AÑO??
7. KUKULL WA, GANGULI M. Epidemiology of dementia: concepts and overview. *Neurol Clin N Am* 2000; 18: 923-49.
8. INE. Chile. Censo 2002. Resultados Vol II personas, viviendas y hogares. Santiago de Chile 2003.
9. LIM A, TSUANG D, KUKULL W, NOCHLIN D, LEVERENZ J, McCORMICK W ET AL. Clinico-neuropathological correlation of Alzheimer's disease in a community-based case series. *J Am Geriatr Soc* 1999; 47: 564-9.
10. KNOPMAN DS, DEKOSKY ST, CUMMINGS JL, CHUI H, COREY-BLOOM J ET AL. Practice parameter: diagnosis of dementia (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2001; 56: 1143-53.
11. HANSSON O, ZETTERBERG H, BUCHHAVE P, LONDOS E, BLENNOW K, MINTON L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurol* 2006; 5: 228-34.
12. MUNGAS D, HARVEY D, REED BR, JAGUST WJ, DECARLI C, BECKETT L ET AL. Longitudinal volumetric MRI change and rate of cognitive decline. *Neurology* 2005; 65: 565-71.
13. GALTON CJ, ERZINCIOGLU S, SAHAKIAN BJ, ANTOUN N, HODGES JR. A comparison of the Addenbrooke's Cognitive Examination (ACE), conventional neuropsychological assessment, and simple MRI-based medial temporal lobe evaluation in the early diagnosis of Alzheimer's disease. *Cogn Behav Neurol* 2005; 18: 144-50.
14. KLUNK WE, ENGLER H, NORDBERG A, WANG Y, BLOMQUIST G, HOLT DP ET AL. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol* 2004; 55: 306-19.
15. HIGUCHI M, IWATA N, MATSUBA Y, SATO K, SASAMOTO K, SAIDO TC. 19F and 1H MRI detection of amyloid beta plaques *in vivo*. *Nat Neurosci* 2005; 8: 527-33.
16. FAGAN AM, MINTUN MA, MACH RH, LEE SY, DENCE CS, SHAH AR ET AL. Inverse relation between *in vivo* amyloid imaging load and cerebrospinal fluid Abeta42 in humans. *Ann Neurol* 2006; 59: 512-9.
17. NORDBERG A. PET imaging of amyloid in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2004; 3: 519-27.
18. MYERS AJ, GOATE AM. The genetics of late-onset Alzheimer's disease. *Curr Opin Neurol* 2001; 14: 433-40.
19. CITRON M. Alzheimer's disease: treatments in discovery and development. *Nat Neurosci* 2002; 5: 1055-7.
20. GHOSH AK, KUMARAGURUBARAN N, TANG J. Recent Developments of Structure Based beta-Secretase Inhibitors for Alzheimer's Disease. *Curr Top Med Chem* 2005; 5: 1609-22.
21. TOMITA T, IWATSUBO T. gamma-Secretase as a Therapeutic Target for Treatment of Alzheimer's Disease. *Curr Pharm Des* 2006; 12: 661-70.
22. AISEN PS. The development of anti-amyloid therapy for Alzheimer's disease: from secretase modulators to polymerization inhibitors. *CNS Drugs* 2005; 19: 989-96.
23. SOTO C, ESTRADA L, CASTILLA J. Amyloids, prions and the inherent infectious nature of misfolded protein aggregates. *Trends Biochem Sci* 2006; 31: 150-5.
24. INESTROSA NC, REYES AE, CHACÓN MA, CERPA W, VILLALÓN A, MONTIEL J ET AL. Human-like rodent amyloid-beta-peptide determines Alzheimer pathology in aged wild-type Octodon degu. *Neurobiol Aging* 2005; 26: 1023-8.
25. SCHENK D, BARBOUR R, DUNN W, GORDON G, GRAJEDA H, GUIDO T ET AL. Immunization with amyloid-beta

- attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature* 1999; 400: 173-7.
26. JANUS C, PEARSON J, MCLAURIN J, MATHEWS PM, JIANG Y, SCHMIDT SD ET AL. A beta peptide immunization reduces behavioural impairment and plaques in a model of Alzheimer's disease. *Nature* 2000; 408: 979-82.
 27. MORGAN D, DIAMOND DM, GOTTSCHALL PE, UGEN KE, DICKEY C, HARDY J ET AL. A beta peptide vaccination prevents memory loss in an animal model of Alzheimer's disease. *Nature* 2000; 408: 982-5.
 28. 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.
 29. SCHENK D, HAGEN M, SEUBERT P. Current progress in beta-amyloid immunotherapy. *Curr Opin Immunol* 2004; 16: 599-606.
 30. ORGOGOZO JM, GILMAN S, DARTIGUES JF, LAURENT B, PUEL M, KIRBY LC ET AL. Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after Abeta42 immunization. *Neurology* 2003; 61: 46-54.
 31. NICOLL JA, WILKINSON D, HOLMES C, STEART P, MARKHAM H, WELLER RO. Neuropathology of human Alzheimer disease after immunization with amyloid-beta peptide: a case report. *Nat Med* 2003; 9: 448-52.
 32. FERRER I, BOADA ROVIRA M, SÁNCHEZ GUERRA ML, REY MJ ET AL. Neuropathology and pathogenesis of encephalitis following amyloid-beta immunization in Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 2004; 14: 11-20.
 33. WEKSLER ME, GOURAS G, RELKIN NR, SZABO P. The immune system, amyloid-beta peptide, and Alzheimer's disease. *Immunol Rev* 2005; 205: 244-56.
 34. MCLAURIN J, CECAL R, KIERSTEAD ME, TIAN X, PHINNEY AL, MANEA M ET AL. Therapeutically effective antibodies against amyloid-beta peptide target amyloid-beta residues 4-10 and inhibit cytotoxicity and fibrillogenesis. *Nat Med* 2002; 8: 1263-9.
 35. HOCK C, KONIETZKO U, PAPASSOTIROPOULOS A, WOLLMER A, STREFFER J, VON ROTZ RC ET AL. Generation of antibodies specific for beta-amyloid by vaccination of patients with Alzheimer disease. *Nat Med* 2002; 8: 1270-5.
 36. HOCK C, KONIETZKO U, STREFFER JR, TRACY J, SIGNORELLI A, MULLER-TILLMANN B ET AL. Antibodies against beta-amyloid slow cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neuron* 2003; 38: 547-54.
 37. GILMAN S, KOLLER M, BLACK RS, JENKINS L, GRIFFITH SG, FOX NC ET AL. AN1792(QS-21)-201 Study Team. Clinical effects of Abeta immunization (AN1792) in patients with AD in an interrupted trial. *Neurology* 2005; 64: 1553-62.
 38. FOX NC, BLACK RS, GILMAN S, ROSSOR MN, GRIFFITH SG, JENKINS L ET AL. AN1792(QS-21)-201 Study. Effects of Abeta immunization (AN1792) on MRI measures of cerebral volume in Alzheimer disease. *Neurology* 2005; 64: 1563-72.
 39. DODEL RC, DU Y, DEPBOYLU C, HAMPPEL H, FROLICH L, HAAG A ET AL. Intravenous immunoglobulins containing antibodies against beta-amyloid for the treatment of Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75: 1472-4.
 40. RELKIN N, SZABO P, ADAMIAK B, MONTHE C, BURGUT FT, DU Y ET AL. Intravenous Immunoglobulin (IVIg) Treatment Causes Dose-Dependent Alterations in b-amyloid (Ab) Levels and Anti-Ab Antibody Titers in Plasma Disease (AD) Patients. 57th Annual Meeting American Academy Neurology 2005; 64: Suplem 1: 144-5.