

**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
INMUNOTERAPIA PARA LA ENFERMEDAD
DEL ALZHEIMER**

Autor: Isabel M^a Ureña Vacas
Tutor: Elena González Burgos
Convocatoria: Junio de 2018

1. Resumen

La enfermedad del Alzheimer es el tipo de demencia más común. Es irreversible e incurable. Todos los tratamientos aprobados son sintomáticos. En este trabajo se comentan las distintas líneas de investigación actuales basadas en la inmunoterapia. Utilizando la proteína tau y el péptido β -Amiloide como dianas, debido su importancia en la patogenia de la enfermedad, se están desarrollando anticuerpos monoclonales y vacunas, obteniéndose, en algunos de ellos, resultados positivos en fase II/III. El desarrollo de una vacuna eficaz y segura requiere la correcta elección del inmunógeno (completo o parcial) y la búsqueda de un adyuvante que induzca una respuesta Th2, evitando una respuesta Th1 proinflamatoria. Desde la primera vacuna AN1792 hasta los ensayos en marcha (vacunas génicas, liposomales...) han tenido lugar numerosos avances. La inmunoterapia pasiva constituye una de las líneas más desarrolladas. Los ensayos con Anticuerpos monoclonales, como el aducanumab y crenezumab, están demostrando evidencias importantes en cuanto a la reducción de las placas. La efectividad de los mismos está relacionada con el Alzheimer leve y por tanto implica un diagnóstico precoz. Además los estudios o bien tienen una población pequeña, o la duración del ensayo es insuficiente. Otras moléculas como las inmunoglobulinas intravenosas (IVIG) también han sido investigadas y aunque los resultados finales no han sido satisfactorios se han planteado una serie de ensayos adicionales dirigidos a ciertos subgrupos poblacionales. La inmunoterapia frente a tau, aunque menos desarrollada, presenta un número de ensayos y estudios murinos crecientes. Como línea futura también se comenta la inmunización polivalente.

Palabras clave: inmunoterapia, β -amiloide, Tau, Alzheimer, vacunas, terapia anticuerpos, IVIG.

2. Introducción

La enfermedad del Alzheimer (EA) es un desorden neurológico progresivo, irreversible e incurable. Es la causa más frecuente de demencia, constituyendo un 60% de los casos¹. El perfil demográfico de la sociedad, caracterizado por el aumento de la esperanza de vida, junto con la inexistencia de un tratamiento curativo, hace que las proyecciones futuras para esta enfermedad no sean alentadoras. Se estima que, en 2050, 131.5 millones de personas estarán afectados por ella.

A la situación alarmante que esta enfermedad genera, debido a su elevado grado de morbilidad, al deterioro funcional y cognitivo que produce y al daño emocional en el entorno más próximo al enfermo, se debe unir el coste sanitario que implica. Se estima un gasto de 172 billones de dólares al año ². El enfermo de Alzheimer comienza con errores puntuales de memoria, evolucionando hacia la alteración de la memoria reciente y de la capacidad de aprendizaje. Se producen alteraciones del lenguaje hasta una fase final en la cual el paciente no puede formar y comprender el lenguaje correctamente. Encontramos alteraciones de conducta como apatía, irritabilidad y agresividad. Finalmente, la causa de la muerte suele deberse a infecciones.

La búsqueda de un tratamiento efectivo que ayude a frenar el avance de la enfermedad se plasma en la existencia de numerosas líneas de investigación y ensayos clínicos, de los que hasta ahora, no se ha obtenido una cura definitiva. Las únicas opciones de tratamiento aprobadas, todas ellas sintomáticas, son los inhibidores de la colinesterasa (donepezilo, rivastigmina y galantamina) y la memantina, antagonista del receptor glutamínico NMDA. Desde 2003 no se ha aprobado ningún nuevo tratamiento ³.

A pesar de que el desarrollo de nuevos tratamientos efectivos es complicado y muchos de los ensayos clínicos más esperanzadores han sido cancelados en fase II/III por su falta de eficacia o por sus efectos adversos, se encuentran líneas de investigación prometedoras como la que se presenta en este trabajo: la inmunoterapia.

La inmunoterapia, como se profundizará en adelante, es una terapia biológica, que consiste en estimular la respuesta inmunitaria ya sea de manera pasiva (por la administración de anticuerpos específicos) o de manera activa (mediante vacunación).

La EA se caracteriza por una degeneración progresiva y selectiva de poblaciones neuronales que, a nivel macroscópico se traduce en una atrofia generalizada.

Las dos características neuropatológicas más importantes son las placas amiloides, también llamadas placas seniles, y los ovillos neurofibrilares. No son patognomónicos puesto que se encuentran en otras formas de demencia, pero sí son frecuentes en la enfermedad del Alzheimer.

Las placas amiloides pueden ser de dos tipos: difusas o neuríticas, siendo estas últimas las asociadas con la discapacidad cognitiva (Figura 1)⁴.

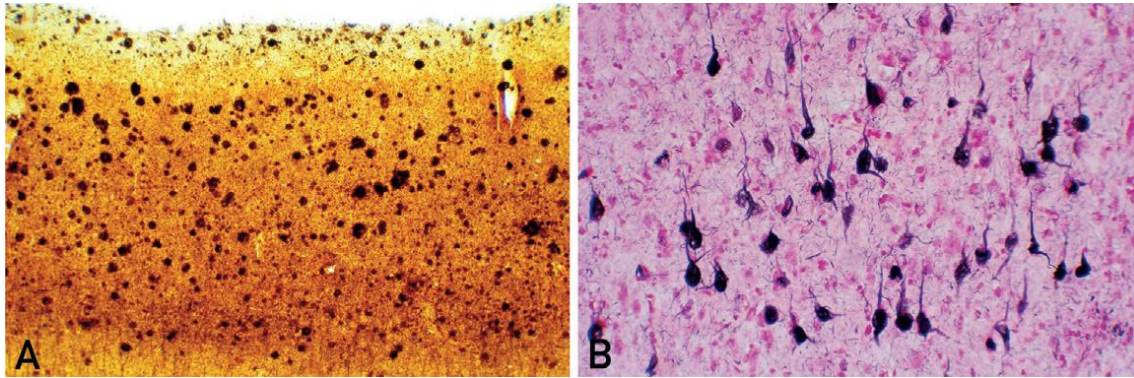


Fig 1. Micrografía placas difusas (A) y placas neuríticas (B).⁴ Caselli RJ et al. 2017

Una de las hipótesis más aceptadas implicada en el proceso fisiopatológico de la enfermedad de Alzheimer es la denominada hipótesis amiloide. Esta hipótesis se apoya en el hecho de que en pacientes con Alzheimer heredado con carácter autosómico dominante, los tres genes implicados están relacionados con un incremento de producción de β -amiloide (en concreto $A\beta_{1-42}$), que se depositará formando estas placas. Estos tres genes son el gen de la proteína precursora amiloide (APP), el gen de la presenilina 1 (PSEN1) y el gen de la presenilina 2 (PSEN2).

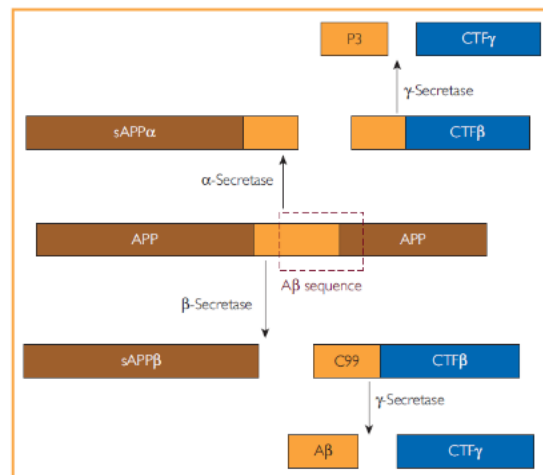


Fig 2. Vías metabólicas del precursor de la proteína amiloide.⁴ Caselli RJ et al.2017

El Gen APP presenta dos vías metabólicas (Figura 2)⁴. Por un lado la vía no amiloidogénica en la cual el APP es escindido, dentro de la membrana plasmática, por la α -secretasa, rompiendo la secuencia $A\beta$ y liberando el fragmento sAPP α al espacio extracelular. Mientras que por otro encontramos la vía amiloidogénica, que conduce hacia el Alzheimer, en la cual el APP es escindido por la β -secretasa, liberando sAPP β al espacio extracelular. El extremo C terminal unido a la membrana que permanece tras la ruptura (C99) será escindido por la γ -secretasa, liberando en este caso el péptido insoluble $A\beta_{1-42}$. Este péptido comenzará a agregarse formando las placas.

La formación de estas placas lleva a cambios en la estructura del citoesqueleto y de las espinas dendríticas, a la degeneración axonal, a defectos en las sinapsis neuronales e incluso provoca la muerte neuronal.

Otra de las proteínas estudiadas y relacionadas con el Alzheimer es la proteína Tau. Su función es la estabilización de los microtúbulos durante la mitosis celular. La hiperfosforilación de las proteínas Tau reduce su afinidad por enlazarse con los microtúbulos, provocando la agregación de dichas proteínas, constituyendo filamentos helicoidales, que impiden a la neurona tener su estructura funcional y que por tanto generarán la pérdida de la actividad sináptica y la muerte neuronal.

Como se ha explicado, la agregación de ambas proteínas está relacionada con la muerte neuronal, pero la presencia de estos agregados es insuficiente para diagnosticar el Alzheimer. La efectividad de los tratamientos está estrechamente unida a su uso en una etapa temprana de la enfermedad, por ello el diagnóstico precoz será esencial.

Debido a esto, actualmente, las investigaciones se centran en la mejora de las técnicas de diagnóstico y en la búsqueda de tratamientos curativos. El desarrollo de una vacuna frente al Alzheimer y las terapias con anticuerpos se proponen como nuevas terapias para el Alzheimer precoz y abren una nueva dirección en la búsqueda de soluciones.

3. Objetivos

- Establecer un breve contexto fisiopatológico y epidemiológico del Alzheimer en la actualidad que justifique el interés por la búsqueda de nuevos tratamientos
- Reunir información sobre las nuevas líneas de investigación basadas en la inmunoterapia, tanto activa como pasiva.
- Estudiar las ventajas e inconvenientes del posible uso de la terapia de anticuerpos en el Alzheimer y los distintos anticuerpos que se han investigado.
- Mostrar el proceso de desarrollo de una vacuna eficaz contra el Alzheimer en los últimos años, y los desafíos y obstáculos con los que los investigadores se están encontrando a lo largo de los ensayos clínicos.
- Destacar la necesidad de continuar avanzando en el campo de la inmunoterapia como estrategia frente a la enfermedad a pesar de los resultados poco satisfactorios.

4. Material y métodos

Para la realización de esta revisión bibliográfica se han utilizado diversas bases de datos entre ellas destacan PUBMED, Google Scholar, Biblioteca Cochrane, Medes (Medicina en español) y Medline. Para ello, y mediante una restricción idiomática, se han elegido como descriptores una serie de términos tanto en inglés como en español entre los que se destacan: “immunotherapy”, “Alzheimer’s vaccine”, “Alzheimer’s disease”, “antibody therapies”, “amyloid beta”, “Tau”. De entre todos los artículos, se han seleccionado aquellos publicados en los años comprendidos entre 2015 y 2017, con el fin de obtener una información de actualidad, y que hicieran referencia a las nuevas estrategias para el tratamiento del Alzheimer, basadas en la inmunoterapia. Se ha excluido de la búsqueda artículos relacionados con otros tratamientos modificadores de la enfermedad que no se pueden englobar dentro de la inmunoterapia. Dado que los artículos escogidos presentan ensayos clínicos no finalizados o cancelados las conclusiones de esta revisión estarán ajustadas a las características de los estudios analizados.

5. Resultados y Discusión

La falta de acetilcolina que tiene lugar durante la EA, debido a la pérdida de neuronas colinérgicas llevo a introducir como tratamiento a los inhibidores de la colinesterasa, actualmente comercializados. La excitotoxicidad mediada por glutamato justifica el uso de la memantina como antagonista del receptor de NMDA. Pero la realidad es que ninguno de estos tratamientos pone fin a la pérdida progresiva de neuronas. Sólo ayuda a ralentizar la pérdida de la función cognitiva. En la actualidad una de las estrategias más prometedoras es la inmunoterapia.

Inmunoterapia frente al péptido A β

De entre todas las moléculas relacionadas con el Alzheimer, el péptido β -amiloide constituye el centro de las investigaciones. La importancia de este tipo de línea de investigación se debe además a la variedad de moléculas que actuarían como posibles dianas, entre las que encontramos el gen APP, los monómeros A β , los oligómeros solubles A β y las fibras A β insolubles. En la Figura 3, se muestra el proceso de formación de las placas y las diversas moléculas que intervienen. Se señalan los oligómeros solubles y las fibras insolubles como las dianas más frecuentes de los anticuerpos monoclonales.⁵

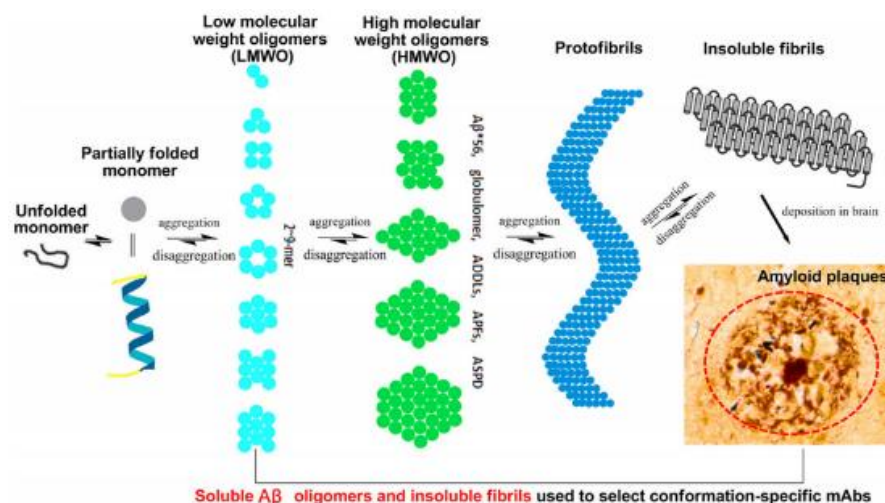


Fig 3. Formación placas amiloides. Distintas dianas péptido Aβ.⁵ Liu J, Yang B et al. 2016.

Encontramos dos tipos de inmunoterapia: la activa y la pasiva.

Inmunoterapia pasiva

La inmunoterapia pasiva es una de las líneas de investigación más desarrollada. Los ensayos clínicos que se están llevando a cabo están demostrando evidencias importantes en cuanto a la reducción de las placas y muchos de ellos se encuentran en fase II/III.⁶

Estos Ac monoclonales anti-Aβ, ya sean humanos o humanizados se pueden obtener por distintos métodos. Uno de ellos sería mediante purificación de los Ac específicos de las Ig humanas. Otro de los métodos consistiría en la humanización de los Ac murinos mediante tecnología de ADN recombinante. También pueden generarse *in vitro* mediante técnicas de exhibición de bacterias de fagos de IG humanas. Por último podrían obtenerse por generación *in vivo* mediante la inmunización de ratones cuyos loci para las Ig han sido reemplazados por los genes de las inmunoglobulinas humanas.⁷

Este tipo de terapia presenta ventajas e inconvenientes. Por un lado, encontramos desventajas como la baja penetración de los Ac a través de las barreras celulares que aíslan el cerebro, que implica que las infusiones de anticuerpos se tengan que repetir a lo largo del tiempo. La elección de los antígenos adecuados y el desarrollo de la respuesta inmune necesaria tampoco es tarea fácil. Además su producción supone un alto coste. La cara positiva de esta terapia sería que se conoce la cantidad específica de anticuerpos administrados y el aclaramiento de estos podría realizarse rápidamente en caso de la aparición de efectos adversos.

Los anticuerpos se diferencian según a qué región del péptido A β son específicos como se aprecia en la imagen (Figura 4).⁵

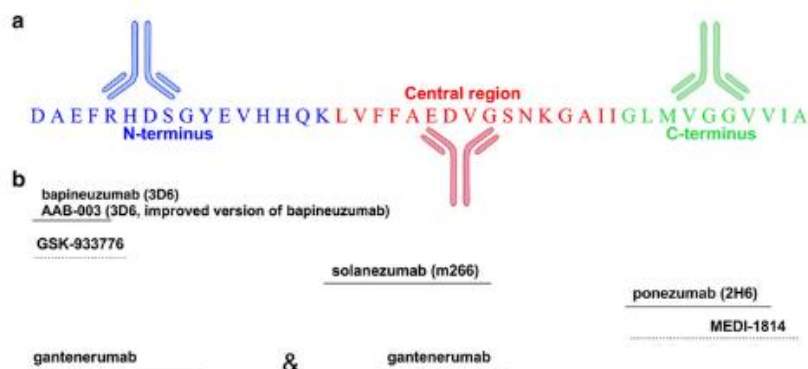


Fig.4. Distintas regiones de la secuencia A β utilizada como antígenos y mAbs derivados.⁵ Liu J et al. 2016

Los anticuerpos específicos frente a la región N-terminal acceden al tejido cerebral y al unirse a las placas las eliminan por fagocitosis mediada por Fc. Esto explica el aclaramiento central amiloide. Los Ac frente a la región central por otra parte se explicarían por el aclaramiento periférico.⁶

Los anticuerpos utilizados reducen las placas de β -amiloide en el cerebro en modelos preclínicos y en humanos. En la actualidad ninguno de los anticuerpos monoclonales para el tratamiento de la EA está aprobado.

En este trabajo se presentan una serie de anticuerpos sobre los que se ha investigado o están siendo investigados actualmente. El primer anticuerpo monoclonal humanizado fue el **bapineuzumab**. Este anticuerpo se dirigía específicamente al extremo N terminal del péptido β -amiloide, en concreto a A β ₁₋₅. Este Ac avanzó hasta fase III, en la cual se tuvo que poner fin, ya que ni se confirmaba la eficacia esperada en la mejora de la cognición ni era seguro.³ Presentó importantes efectos adversos, vasculares, entre los que destacamos los edemas vasogénicos y las microhemorragias cerebrales.

También se observaron síntomas gastrointestinales, neuropsiquiátricos, dolores de cabeza y confusión. Todo ello condujo a suspender los ensayos en fase III. A pesar de la suspensión, todavía hay dos ensayos en fase uno con el fin de probar la seguridad y tolerabilidad de una nueva versión del bapineuzumab.

En el caso del **solanezumab**, los resultados fueron más prometedores. Este Ac humanizado IgG1 es específico contra el dominio medio del péptido A β (A β ₁₆₋₂₄). Se une

selectivamente a las forma monoméricas, solubles y tóxicas del péptido, no a las fibrilares. Su mecanismo de acción está basado en que una vez se secuestra el péptido A β , se desplaza el equilibrio entre las diferentes formas del péptido y esto se traduce en la eliminación de las formas solubles, las cuales son tóxicas. Su efecto terapéutico requiere de unos niveles de exposición alta y constante. Los ensayos en fase I demostraron que el solanezumab era bien tolerado en voluntarios sanos y pacientes con EA leve a moderado. En los ensayos en fase II se aumentaron las dosis y se comprobó la seguridad. Se observó un aumento en el nivel de péptido A β en plasma lo que indicaba que habían sido desplazados del cerebro. Sería en los ensayos en fase III donde se observó que entre los sujetos con EA de leve a moderado se reducía el deterioro cognitivo en un 34% pero que esta efectividad se producía solo en los pacientes con EA leve, lo que podría indicar que los efectos terapéuticos sólo serían posibles en estadios tempranos de la enfermedad.^{8, 9, 10}

Ponezumab es un anticuerpo IgG2 humanizado. Se une específicamente al extremo C terminal del péptido A β . Los primeros datos indica un perfil de seguridad adecuado, sin embargo no se ha encontrado una mejora cognitiva en los ensayos completados en fase II.¹⁰

El anticuerpo monoclonal **Aducanumab** se une a las formas agregadas del péptido A β , y se propone como modificador de la EA. Se puso en marcha un ensayo en fase IB, randomizado, doble ciego, con placebo con el fin de evaluar las características de esta molécula, tanto su eficacia y seguridad como su farmacodinamia y farmacocinética. Entre los resultados de los análisis se destaca, por un lado, la relación tanto dosis dependiente como tiempo dependiente en la reducción de la placa y por otro, y más importante el enlentecimiento del deterioro funcional y cognitivo en relación a los placebos. Actualmente hay dos ensayos en fase III a dos dosis diferentes.^{8, 10}

En este caso el perfil de seguridad y tolerancia es aceptable. Todos estos datos se obtienen de un estudio cuyo alcance y participación son bajos, por lo tanto, debe repetirse con un mayor número de sujetos.

Otro de los anticuerpos desarrollados recibe el nombre de **gantenerumab**. Este anticuerpo también se une selectivamente a las formas agregadas del péptido A β e induce su fagocitosis por las células de la microglia. Presenta dos lugares de unión. Uno de ellos se une a la región N terminal del péptido y el otro al dominio medio. Actualmente se

encuentra en fase III. Al igual que el anterior, también se observa una reducción de la placa dosis dependiente, pero las variaciones son muy leves. Se cree que las dosis empleadas fueron muy bajas y por tanto se proponen estudios a dosis más altas con el fin de apreciar un cambio significativo.

El **Crenezumab** es nuevo anticuerpo IgG4 monoclonal humano el cual se une a los oligómeros A β , fibrillas y placas inhibiendo la agregación y promoviendo la disgregación. Este anticuerpo, conocido también como Th2, se caracteriza por una baja probabilidad de provocar una respuesta inmune inflamatoria. De esta manera reduce la actividad proinflamatoria y con ello el riesgo de edema vasogénico y de microhemorragia cerebral. Además, este anticuerpo se está utilizando en un ensayo preventivo dirigido a personas que presentan el gen PS1 mutado.

A pesar de que algunos de ellos demostraron una reducción del deterioro cognitivo, los estudios o bien tenían una población pequeña, o la duración del ensayo era demasiado baja e insuficiente. Además, esta reducción sólo era visible en casos de Alzheimer leve, lo que nos indica que estos tratamientos serían eficaces combinados con una diagnosis temprana pero no en los casos más desarrollados. El problema es que cuando los síntomas característicos del Alzheimer se presentan ya es demasiado tarde.

Mejorar las técnicas de diagnóstico permitirá la intervención temprana en esta enfermedad, y en estas situaciones, alguna de las moléculas mencionadas sí podría resultar ser un agente eficaz que suponga un cambio significativo para el retroceso de la enfermedad.

Mientras la investigación con mAc sigue su curso, surgen nuevos enfoques. Entre estos se encuentra la administración de anticuerpos naturales. Recibe el nombre de **inmunoglobulina intravenosa (IVIG)**, puesto que hace referencia a una mezcla de anticuerpos policlonales preparados a partir del plasma sanguíneo de miles de voluntarios sanos. Desde 2002 se ha comenzado a investigar en el uso de estos anticuerpos en el tratamiento del Alzheimer. Estos ya habían sido utilizados en otras enfermedades como el cáncer, inmunodeficiencias y desórdenes neurológicos e inflamatorios. A diferencia de los anticuerpos monoclonales que sólo reconocen un epítipo específico, estos Ac reconocen una variedad de epítipos diferentes. Los estudios demostraron que IVIG se unía de manera significativa a las formas oligoméricas tóxicas y a las neurofibrillas de A β e inicialmente se apreciaba una reducción en el deterioro cognitivo.

El ensayo continuó en fase II y III en pacientes con EA de leve a moderado. Los resultados en esta última fase no fueron satisfactorios, la eficacia no resultó ser la esperada lo que llevo en 2012 a cancelar el estudio. A pesar de ello el perfil de seguridad y tolerancia era bueno y en ciertos subgrupos de la población, los resultados eran positivos. Por ello, en la actualidad se plantean iniciarse ensayos adicionales.

Se incluye en la Tabla 1, un resumen de los distintos anticuerpos que han sido investigados.⁸

Drug	Type of antibody	Company	A β epitope	Clinical stage
Bapineuzumab	Humanised monoclonal IgG1	Pfizer/Janssen	N-terminal (all forms)	Two Phase III studies completed
Solanezumab	Humanised monoclonal IgG1	Eli Lilly	Mid-domain (monomers)	Two Phase III studies completed. Other Phase III studies ongoing
Gantenerumab	Humanised monoclonal IgG1	Hoffman-La Roche	N-terminal and mid-domain (aggregates)	Phase III
Crenezumab	Humanised monoclonal IgG4	Genentech	Mid-domain (oligomers and fibrils)	Phase II
Ponezumab	Humanised monoclonal IgG2	Pfizer	C-terminal (plasmatic monomer)	Phase II repurposed for CAA
BAN2401	Humanised monoclonal IgG1	BioArtic/Eisai	E22 G 'arctic' mutation (protofibrils)	Phase II
Aducanumab	Human monoclonal IgG1	Biogen Idec	N-terminal and mid-domain (aggregated A β)	Phase III
Octagam IVIG	Human polyclonal	Octapharma	Multiple sites on conformational A β epitopes	Phase II completed
Gammagard IVIG	Human polyclonal	Baxter	Multiple sites on conformational A β epitopes	Phase III completed
Newgam	Human polyclonal	Sutter Health	Multiple sites on conformational A β epitopes	Phase II

Tabla 1. Inmunoterapia pasiva para el Alzheimer que ha superado fase I.⁸ Montoliu-Gaya L, Villegas S.2016.

Inmunoterapia activa

La inmunoterapia activa necesita de la administración de un antígeno adecuado para que se desarrolle la respuesta inmune del paciente. En este caso, utilizando como base la teoría amiloide, se escoge el péptido A β como el principal factor patogénico del Alzheimer. Se busca neutralizar los péptidos A β y desplazarlos del cerebro. Para ello se utilizan proteínas completas o fragmentos de ellas que estimulen la producción de anticuerpos por las células B.^{1,11}

Al igual que ocurría con la inmunoterapia pasiva, encontramos una serie de ventajas y desventajas. Por un lado, mientras que los anticuerpos podrían ser un tratamiento efectivo contra el Alzheimer, la vacunación podría retrasar el desarrollo de la enfermedad y a su vez actuar como la principal forma de prevención del EA. El alcance de esta estrategia estaría supeditado a la amplitud de la respuesta inmune, y a diferencia de los mAbs se necesitaría un menor número de vacunaciones. Sin embargo, este enfoque está estrechamente unido a la inmunosenescencia dependiente de la edad.³

La vacunación perdería efectividad a medida que aumenta la edad del individuo, situación que no ocurre con la administración de anticuerpos. Por otro lado, los anticuerpos policlonales que se desarrollan podrían ocasionar efectos adversos duraderos o incluso para toda la vida. La diversidad de respuestas que tienen lugar podría generar efectos de tipo autoinmune.

Actualmente la inmunoterapia pasiva ha demostrado fuertes evidencias de mayor efectividad y seguridad que la activa. Los avances en el desarrollo de vacuna son más lentos pero necesarios. Las vacunas frente al Alzheimer comenzaron a desarrollarse siguiendo los mismos métodos aplicados en otras vacunas (cáncer, enfermedades infecciosas), pero las características de la EA son significativamente diferentes.

En el Alzheimer la respuesta inmune va dirigida frente a auto-antígenos como el péptido A β . Las diferencias entre las formas normales y anómalas están relacionada fundamentalmente con su estructura pero no con su composición. Además mientras que en el caso de las enfermedades infecciosas o células tumorales la respuesta que se espera es fundamentalmente inflamatoria (Th1/Th2) diseñada para destruir las células infectadas, en el Alzheimer se busca por el contrario una respuesta antiinflamatoria. Una respuesta inflamatoria Th1 agrava la enfermedad debido a la acción de las citoquinas inflamatorias y los linfocitos T citotóxicos. El diseño de la vacuna influye directamente en el tipo de respuesta inmune que se desarrolla, pudiendo prevenir, mejorar o incluso agravar la situación.^{11,12}

Las vacunas frente al Alzheimer están constituidas por dos elementos. Por un lado un inmunógeno, que determinará la especificidad de la respuesta inmune, y por otro lado un adyuvante que potenciará esta respuesta. Estos inmunógenos se caracterizan por su dinamismo ya que se ven modificados por procesos de oligomerización, modificaciones post-traduccionales y cambios conformacionales. Es por ello difícil obtener una respuesta completa que actúe frente a las distintas formas de las proteínas que intervienen utilizando sólo antígenos parciales, por ello se comenzó utilizando el antígeno completo. Sin embargo, este antígeno completo, tiene la capacidad intrínseca de inducir la respuesta Th1 y Th17 (también pro inflamatoria).

Los adyuvantes, también son esenciales para el desarrollo de una respuesta adecuada. (Figura 5)¹²

Los progresos en la búsqueda de adyuvantes efectivos son más lentos. Se buscan moléculas que promuevan una respuesta Th2 antiinflamatoria y que a su vez genere una respuesta inmune robusta que mejore los efectos producidos por la inmunosenescencia.

Debido a las características comentadas se busca una vacuna efectiva que induzca Th2 a la vez que inhibe las respuestas Th1 y Th17 que induce el antígeno completo, para prevenir esta respuesta inflamatoria manteniendo la capacidad de responder a las distintas formas tóxicas del péptido.

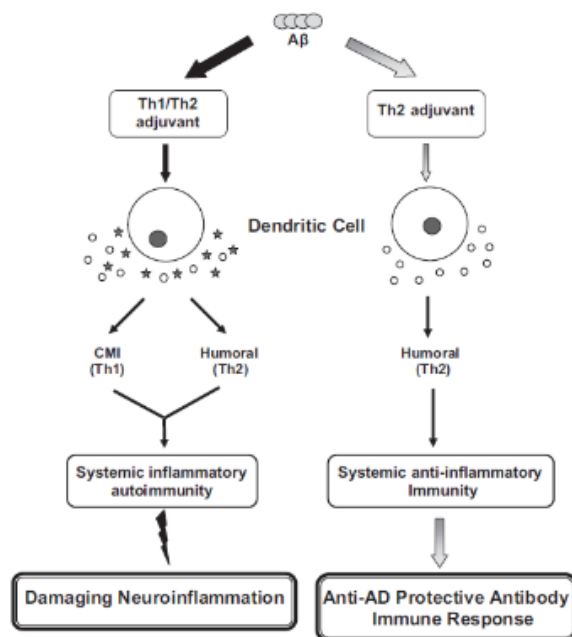


Fig 5. Divergencias de efectos según el tipo de adyuvante.¹² Marciani DJ.2016

Entre los adyuvantes investigados bajo estas premisas encontramos el aluminio. Es un adyuvante predominantemente Th2. Demostró ser seguro, pero débil, ya que estimulaba de manera pobre la inmunidad en la población de mayor edad. También se consideró el uso de toxinas bacterianas, como la toxina colérica pero estas mostraron que dependiendo de una serie de condiciones la respuesta variaba, pudiendo ser tanto Th2 como Th1, Th17 y que por tanto, podían generar daños.¹¹

Continuando esta búsqueda de adyuvantes se observó que ciertos parásitos helmínticos se protegían contra la respuesta Th1 de su hospedador mimetizando componentes que producían los mamíferos para disminuir Th1 e inducir Th2. De esta manera la respuesta inflamatoria tampoco daña los órganos del hospedador y permite la convivencia de ambos. Los dos adyuvantes derivados de los helmintos están basados en dos moléculas: los esfingolípidos y los glucanos fucosilados.^{11, 12}

En este trabajo se reúne información sobre los distintos ensayos de la primera generación de vacunas Aβ42, AN1792, y de una nueva generación de vacunas activas.

La **primera generación activa de vacunas AN1792** está constituida por agregados de Aβ42 humano y por el adyuvante inmunogénico QS-21 con el fin de estimular una respuesta inmune capaz de reducir las placas y con ello mejorar el desarrollo cognitivo.

Los estudios demostraban que los anticuerpos encontrados en el suero de los pacientes al ser tratados con esta vacuna reconocían las placas amiloides, los depósitos de A β difusos, y β -amiloide vascular y eran altamente selectivos ya que no reaccionaban contra la proteína precursora o el A β 42 soluble. El mecanismo consistiría en la solubilización del péptido para hacer posible su aclaramiento.

Los resultados de la fase 1 del estudio mostraron que un paciente desarrolló meningoencefalitis 219 días tras el estudio. Se diagnosticó *post mortem* y no se encontró relación con el tratamiento estudiado. El 23.4 % de los pacientes desarrolló una respuesta positiva de niveles de anticuerpos tras 4 inyecciones con AN1792. Posteriormente tras modificar la formulación este dato aumentó al 58.8% de los pacientes. En Fase II, un 6% de los pacientes tratados con dosis únicas o múltiples, presentaron síntomas de meningoencefalitis.¹ La proporción era significativamente superior a la encontrada en el placebo. No se encontró relación entre el número de inyecciones y la severidad del cuadro clínico. Se observó entonces que la vacuna podía producir, bajo ciertas circunstancias, una reacción de tipo autoinmune.

Fue en esta primera vacuna donde se desarrolló la idea de que los efectos adversos de esta vacuna se debían al antígeno administrado, puesto que presentaba epitopos para la activación de células T, así como al coadyuvante QS-21, potente proinflamatorio, que induce una respuesta sistémica Th1.

En los rendimientos de los test y las distintas escalas para determinar la demencia no se encontraron diferencias significativa entre el grupo placebo y entre los pacientes que generaron anticuerpos. Sin embargo en la exploración neuropsicológica si se revelaron diferencias. Además los niveles de proteína tau, biomarcador de la enfermedad se encontraban disminuidos. Los casos de meningoencefalitis derivaron en la cancelación del ensayo pero a pesar de ello el resultado del ensayo fue positivo ya que se apreció la respuesta humoral así como un enlentecimiento potencial del deterioro cognitivo.

En cuanto a la **nueva generación de vacunas**, a diferencia de la primera, están constituidas por fragmentos del péptido A β con el fin de eliminar los epitopos que desarrollan la respuesta proinflamatoria. Todas proceden del fragmento A β N-terminal a excepción de una de ellas que procede del extremo C-Terminal del péptido. El problema es que siguen utilizando adyuvantes Th1/Th2 como el QS-21y ISCOMS ya que no se tuvo en consideración que estos adyuvantes, a pesar del inmunógeno utilizado, inducen a

una respuesta sistémica inflamatoria muy fuerte. Como se mencionó anteriormente, el uso de fragmentos del péptido derivó en la pérdida de dos tercios de la secuencia aminoacídica de A β y con ella, sus características estructurales. Paradójicamente, estos antígenos incompletos fueron aparentemente efectivos en modelos de ratones transgénicos y por tanto suficientemente efectivos para permitir su estudio en fase clínica

Entre esta nueva generación de vacunas destacan:

-ACC-001: está constituida por el fragmento A β_{1-7} del extremo N terminal. Se encuentra unido al transportador CRM197. Es un mutante no tóxico de la toxina diftérica. Todas las dosis de la vacuna acompañada del adyuvante QS-21 derivaron a altos niveles de anticuerpos. Sin embargo en fase II se observaron efectos adversos de tipo autoinmune, relacionados con el uso de QS-21. No se reportaron casos de meningoencefalitis.¹⁰

-AD01, AD02 y AD03: están compuestas por un péptido no autoantígeno, formado por 6 aminoácidos procedentes de fragmentos del péptido, el cual mimetiza el extremo N terminal del péptido A β_{42} . En este caso el adyuvante utilizado es aluminio. A pesar de los resultados positivos obtenidos en fase I, los datos reportados en fase II no fueron los que se esperaban y el ensayo fue cancelado.^{1,8}

-CAD106: está constituida por el fragmento A β_{1-6} , el cual activa la respuesta tipo B, humoral, evitando que se desarrolle la respuesta celular T. En este caso como transportador se encuentra unido a un número elevado de copias de la cubierta proteica del bacteriófago Q β con el fin de inducir la respuesta inmune. No se reportaron casos de meningoencefalitis en los ensayos en fase I. Se utilizaron distintas dosis. Los pacientes que recibieron CAD106 50 μ g desarrollaron respuesta humoral en el 67% de los casos mientras que aquellos que recibieron CAD106 150 μ g desarrollaron anticuerpos A β en el 82% de los sujetos. Se continuaron los ensayos en fase II en pacientes con Alzheimer leve, y tras múltiples inyecciones subcutáneas o intramusculares, se reportó el caso de un paciente que desarrolló una hemorragia intracerebral severa que podría haber estado relacionada con el ensayo. A pesar de ello el 63.8% desarrollaron la respuesta humoral.

CAD106 ha demostrado que induce a la respuesta inmune sin producir meningoencefalitis. Por ello se están realizando ensayos en fase III para mostrar su eficacia en el enlentecimiento de la enfermedad.¹

Cabe destacar que esta vacuna está siendo investigada en ensayos en fase II/III junto con otra molécula CNP520, la cual es un inhibidor de la β -secretasa con el fin de mostrar su eficacia conjunta frente al placebo.

Otras vacunas, con otros adyuvantes, han alcanzado la fase II de los ensayos clínicos, entre las que se encuentra **V950**. Es una vacuna multivalente, cuyo adyuvante es el aluminio/iscomatrix. La seguridad, tolerabilidad y la inmunogenicidad se evaluaron en un ensayo en fase I, doble ciego y randomizado; sin embargo los datos analizados no han sido publicados aún.¹². Encontramos también **ACI-24**, vacuna en fase I/IIa, constituida por el péptido tetra palmitoilado $A\beta_{1-15}$ para favorecer la conformación en lámina β y de esta manera inducir a la formación de anticuerpos específicos con esta conformación. Es una vacuna liposomal y los liposomas presentan en su interior el lípido A monofosforilado como adyuvante.¹

Fue en los distintos ensayos realizados, donde, mediante la observación de la efectividad y la seguridad se avanzó en la idea de cómo tenía que ser el antígeno y el adyuvante para obtener una vacuna ideal. Identificar lo que no funciona también constituye un logro pero a día de hoy, no se ha encontrado la formulación perfecta.

Otra de las estrategias prometedoras sobre la que se está investigando es la búsqueda de **vacunas génicas**. Se basa en la inmunización genética. En estas vacunas el antígeno no se administra directamente si no que es el gen $A\beta$, completo o fragmentos de este, el cual mediante un vector es transfectado a células del paciente para ser expresado. Se observa que en este tipo de vacunación no aparece una respuesta proinflamatoria como sí ocurre en las vacunas de DNA frente a otros patógenos. La vacuna sí induce a la producción de anticuerpos frente a los epitopo(s) conformacional(es) de $A\beta$ que se forman y por tanto estos Ac se dirigen tanto al péptido lineal como a los oligómeros tóxicos.

Entre los inconvenientes se aprecia que la producción de anticuerpos es menor que en otro tipo de vacunas, y que al igual que estas se ve afectada por la edad del individuo, lo que implicaría también plantear el uso de adyuvantes para mejorar la respuesta. Como se ha explicado anteriormente estos adyuvantes tendrían que inducir la respuesta Th2.

Entre las ventajas cabe destacar que estos anticuerpos presentan mayor afinidad por el antígeno, que podría compensar los bajos niveles de anticuerpos.

Vaccine	Immunogen	Carrier	Adjuvant	Cross-linker	Immune response
AN1792	A β ₁₋₄₂	None	QS-21	None	Th1/Th2
Vanutida-cridifcar	A β ₁₋₇	CRM197	QS-21	Thioether	Th1/Th2
Affitope ADQ2	Hexapeptide mimics A β N-terminus	KLH	Alum	Maleimide	Th2
CAD106	A β ₁₋₆	VLP Q β phage	None	Maleimide	Th2?
V950	A β N-terminal peptide (?)	ISCOMATRIX	Quil A	?	Th1/Th2
UB-311	A β ₁₋₁₄	T-cell epitope MVT, PT, TT	CpG+Alum	?	?
Abvac40	C-terminal A β peptide	KLH	Alum	?	Th2
A β DNA Vac. (DL-W&RNR)	DNA A β ₁₋₄₂ + A β ₁₋₄₂ pept	None	Quil A	None	Th1/Th2
A β DNA Vac. (Liu et al. 2015b)	DNA A β ₁₋₄₂ + A β ₁₋₄₂ pept	None	None	None	Th2

Tabla 2. Composición de diferentes vacunas frente a EA probadas clínicamente o en desarrollo¹². Marciani DJ.2016

Inmunoterapia frente a la proteína tau

Aunque las líneas de investigación más desarrolladas se centran en el péptido β -amiloide, otras de las proteínas relacionadas con la enfermedad del Alzheimer, como es el caso de la proteína Tau, también están siendo estudiadas y abordadas desde el campo de la inmunoterapia. Además los síntomas, progresión y la severidad de la EA están estrechamente unidos a esta proteína.

La proteína Tau se encuentra de manera natural en las células para proporcionar estabilidad a su citoesqueleto. Predomina en las neuronas y se considera una proteína clave en el desarrollo normal de la función neuronal. Sin embargo numerosas modificaciones post-traduccionales como la nitración, acetilación o la hiperfosforilación la convierten en patológica. La hiperfosforilación induce a su agregación y a la formación de los ovillos neurofibrilares que encontramos en diversas demencias, entre las que se encuentra el Alzheimer.

El bloqueo de la hiperfosforilación con el uso de inhibidores de quinasas y la estabilización de los microtúbulos utilizando paclitaxel son estrategias que buscan eliminar la agregación de las proteínas tau. Mientras que estas se mantienen en estudio, un campo prometedor, probado en modelos murinos, emerge: la inmunoterapia.

Al igual que con el péptido A β , diferenciamos la inmunoterapia en sus dos vertientes: activa y pasiva.

En relación a la **inmunoterapia activa**, múltiples estudios en ratones se han llevado a cabo en los últimos años. Los primeros resultados se publicaron en el año 2006. La vacuna estaba constituida por la proteína recombinante tau humana y completa junto con los adyuvantes CFA (adyuvante completo de Freund) y la toxina pertussis. Se inyectó en ratones para comprobar su seguridad con el fin de observar si se desarrollaba encefalomiелitis al igual que en los ensayos con el péptido A β . En los años posteriores se continuó desarrollando esta vacuna modificando el antígeno, dosis y adyuvante, apreciándose en alguno de ellos un aumento de los niveles de anticuerpos frente a tau y una ligera disminución de los ovillos. En 2014, un grupo de investigadores administró subcutáneamente un tipo de proteína tau, en concreto la P301L junto con el adyuvante Quil A durante 6 semanas. Se observaron niveles elevados de anticuerpos en el suero, en concreto del isotipo IgG. Además con este estudio se identificaron los distintos epítomos de la proteína tau, de gran utilidad para futuros estudios. Dos de estos epítomos están relacionados con dominios de fosforilación y por tanto podrían llevar a la formación de los ovillos.^{16, 17}

En la actualidad se está llevando a cabo un ensayo clínico humano de Fase 1 con una vacuna tau activa llamada **AADvac1**. Está constituida por un péptido tau sintético conjugado con KLH (Keyhole limpet hemocyanine) e hidróxido de aluminio como adyuvante. Otro de los ensayos en fase I es el de **ACI35**. En este caso es una vacuna liposomal, constituida por un péptido sintético de la proteína tau humana, correspondiente a la secuencia 393-408 de la isoforma más larga de tau.¹

Respecto a la **inmunización pasiva** se llevaron una serie de estudios, en los cuales el resultado no fue tan efectivo como en la inmunización activa. Uno de los anticuerpos monoclonales inyectado y en el que se basan distintos estudios es el **PHF1**. No se revelaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de tau totales. Otros de los anticuerpos utilizados fueron **HJ8 Y HJ9**, creados frente a la proteína tau humana y la proteína tau murina respectivamente. Alternativamente se buscaron anticuerpos dirigidos contra la proteína tau oligomérica. Es el caso de **TOMA** (Tau Oligomeric monoclonal Antigen), que mostró una reducción en los niveles de oligómeros, y que actualmente está en fases de estudios clínicos.

Para terminar, cabe introducir la idea de la inmunización polivalente, en la cual no sólo se atacaría un antígeno sino una serie de antígenos relevantes para la enfermedad como por ejemplo tau, péptido A β y α -sinucleína. Sin embargo, un número creciente de

antígenos también aumenta los riesgos de desarrollo de una respuesta inflamatoria dañina para el individuo.

6. Conclusiones

- Dado el pronóstico de la enfermedad, marcado por unas cifras de afectados de crecimiento exponencial, son numerosas las líneas de investigación que buscan un tratamiento curativo y preventivo, y no sólo sintomático.
- La inmunoterapia, tanto activa como pasiva, es una de las líneas de investigación más modernas y prometedoras. Aunque los resultados no han sido plenamente satisfactorios, los ensayos llevados a cabo o en desarrollo han permitido un gran avance en el conocimiento de la enfermedad y sientan las bases para encontrar la formulación definitiva.
- Muchos son los anticuerpos estudiados y algunos de ellos como gantenerumab o crenezumab demostraron una reducción del deterioro cognitivo. Esta reducción estaba ligada a casos de Alzheimer leve, por lo que estos tratamientos serían eficaces combinados con una diagnosis temprana. Es importante aumentar la población de estudio y la duración del ensayo para obtener resultados más claros.
- En relación a las vacunas, han tenido lugar importantes logros en la identificación de inmunogénos y adyuvantes Th2 que induzcan a una respuesta adecuada. La inmunosenescencia y los efectos adversos de tipo autoinmune constituyen a día de hoy la principal limitación de este tratamiento.

7. Bibliografía

1. Sterner RM, Takahashi PY, Yu Ballard AC. Active vaccines for Alzheimer Disease Treatment. JAMDA.2016;17:862e11-862e15
2. Ruthirakuhan M, Herrmann N, Suridjan I, Abraham EH, Farber I et Lanctot KL. Beyond immunotherapy: new approaches for disease modifying treatments for early Alzheimer's disease. Expert Opinion on Pharmacotherapy.2016;17(8):2417-2429
3. Godyn J, Jonczyk J, Panek D, Malawska B, Therapeutic strategies for Alzheimer's disease in clinical trials.Pharmacological Reports.2016;68:127-138.
4. Caselli RJ, Beach TG, Knopman DS, Graff-Radford NR. Alzheimer Disease: Scientific Breakthrough and Translational Challenges.Mayo Clin Proc.2017; 92(6): 978-994

5. Liu J, Yang B, Ke J, Li W, Suen WC. Antibody-Based Drugs and Approaches Against Amyloid- β Species for Alzheimer's Disease Immunotherapy. *Drugs Aging*.2016; 33: 685-697
6. Freskgard P, Urich E. Antibody therapies in CNS disease. *Neuropharmacology*.2017; 120: 38-55.
7. Menendez M, Pérez Piñera P, Calatayud MT, Blázquez B, Inmunoterapia para la Enfermedad de Alzheimer. *Archivos de Medicina*.2005;04:1-26
8. Montoliu-Gaya L, Villegas S. A β -Immunotherapeutic strategies: a wide range of approaches for Alzheimer's disease treatment. *Expert Reviews in Molecular Medicine*.2016; 18(13):1-15.
9. Rygel K. Novel strategies for Alzheimer's disease treatment: An overview of anti-amyloid beta monoclonal antibodies. *Indian J Pharmacol*.2016;48(6): 629-636
10. Barrera-Ocampo A, Lopera F. Amyloid-beta immunotherapy: the hope for Alzheimer disease? *Colombia Medica*.2016; 47(4): 203-212.
11. Marciani DJ. Alzheimer's disease vaccine development: A new strategy focusing on immune modulation. *Journal of Neuroimmunology*.2015; 287: 54-63.
12. Marciani DJ. A retrospective analysis of the Alzheimer's disease vaccine progress- The critical need for new development strategies. *JNC*.2016; 137:687-700
13. Wisniewski T, Drummond E. Developing Therapeutic Vaccines Against Alzheimer's Disease. *Expert Rev Vaccines*.2016; 15(3):401-415.
14. Wu J, Li L. Autoantibodies in Alzheimer's disease: potential biomarkers, pathogenic roles, and therapeutic implications. *JBR*.2016; 30(5):361-372.
15. Pohanka M. Vaccination to Alzheimer Disease. Is it a Promising tool or a Blind Way? *Current Medicinal*.2016; 23:1432-1441.
16. Schroeder SK et al. Tau-Directed Immunotherapy: A Promising Strategy for Treating Alzheimer's Disease and Other Tauopathies. *J Neuroimmune Pharmacol*.2016; 11(1):9-25.
17. Sigurdsson EM. Tau Immunotherapy. *Neurodegener Dis*.2016; 16(0): 34-38
18. Amemori T, Jendelova P, Ruzicka J, Machova L, Sykova E. Alzheimer's Disease: Mechanism and Approach to Cell Therapy. *Int. J. Mol. Sci*. 2015; 16: 26417-26451.
19. St-Amour I, Cicchetti F, Calon F. Immunotherapies in Alzheimer's disease: Too much, too little, too late or off target? *Acta Neuropharmacol*.2016;131:481-504
20. Carrera I, Fernández-Novoa L, Aliev G, Vigo C et Cacabelos R. Validating Immunotherapy in Alzheimer's Disease: The EB101 Vaccine. *Current Pharmaceutical Design*.2016; 22:849-858.