

Immunologiczne aspekty choroby Alzheimera

Immunological aspects of Alzheimer's disease

Klinika Psychiatrii Wieku Podeszłego i Zaburzeń Psychotycznych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Adres do korespondencji: Klinika Psychiatrii Wieku Podeszłego i Zaburzeń Psychotycznych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi,
ul. Czechosłowacka 8/10, 92-216 Łódź, tel. 042 678 36 99

Praca finansowana ze środków własnych

Streszczenie

Choroba Alzheimera (AD) jest nieuleczalną chorobą neurodegeneracyjną, której towarzyszy przewlekły proces zapalny. Układ immunologiczny może mieć istotny wpływ na przebieg procesu chorobowego. Głównym patologicznym wyznacznikiem choroby Alzheimera jest gromadzenie w obrębie mózgu złogów β -amyloidu. W obecnym artykule przedstawiono informacje na temat możliwości zastosowania immunoterapii w leczeniu choroby Alzheimera. Metody immunoterapeutyczne, mające usuwać amyloid β z chorych mózgów, dały bardzo pozytywne rezultaty w badaniach na zwierzętach. Zarówno metody aktywnej, jak i biernej immunizacji powodowały wyraźne zmniejszenie zawartości amyloidu w mózgach myszy transgenicznym oraz poprawę ich funkcji poznawczych. Bardzo dobre wyniki na modelach zwierzęcych pozwoliły przeprowadzić wstępne badania kliniczne. Ich wyniki są również obiecujące, choć obciążone ryzykiem zapalenia mózgu. Jedynie dotychczas badanie II Fazy z zastosowaniem szczepionki przeciwko A β zostało przerwane z powodu rozwoju u 18 pacjentów zapalenia opon mózgowych i mózgu. Obecnie ośrodkach badawczych pojawiają się nowe rodzaje technik immunoterapeutycznych.

SŁOWA KLUCZOWE: choroba Alzheimera, immunoterapia, neurozapalenie

Summary

Alzheimer's disease (AD) is an incurable neurodegenerative disease, which is accompanied by chronic inflammation. The immune system has an important role in the process of the disease. The deposition of amyloid β (A β) protein is a key pathological feature in Alzheimer's disease. This article reviews immunotherapeutic strategies against AD. In murine models of AD, both active and passive immunization against A β induces a marked reduction in an amyloid brain burden and an improvement in cognitive functions. The findings from murine studies lead to clinical studies. One Phase II clinical trial of active immunization against A β was discontinued after 18 patients developed meningoencephalitis. After this lesson learned, new immunotherapeutic strategies, including both active and passive immunization, are investigated in clinical centers.

KEY WORDS: Alzheimer's disease, immunotherapy, neuroinflammation

Choroba Alzheimera (AD) jest najczęściej występującą chorobą neurodegeneracyjną, która prowadzi do stopniowego pogarszania się funkcji poznawczych, zniedołężnienia i utraty samodzielności przez chorego. W badaniach neuropatologicznych obserwuje się ubytek neuronów szczególnie w obrębie hipokampa i kory mózgu. Rozpoznanie histopatologiczne stawiane jest na podstawie uwidocznienia odpowiedniej liczby A β -pozytywnych blaszek (amyloid- β ; A β) oraz

zwyrodnienia neurofibrilarnego (*neurofibrillary tangles* – NFTs) w obrębie kory nowej (*neocortex*). W obrazie neuropatologicznym obserwuje się także obecność dystroficznych neurytów (DN), „nitki neuropilowych” (*neuropil threads*), ciała Hirano oraz zwyrodnienia ziarnisto-wodniczowego (*granulovacuolar degeneration* – GVD). Większość zachorowań na AD to przypadki sporadyczne o niejasnej etiologii. Istnieje jednak niewielki odsetek zachorowań, za które odpowiedzialne są czynniki gene-

tyczne. Za występowanie przypadków o wczesnym początku (przed 65. rokiem życia) odpowiedzialne są mutacje zwiększające powstawanie β amyloidu ($A\beta$). Obecnie uważa się, że w rozwoju AD główną rolę odrywają mutacje w trzech genach: dla preseniliny 1 (PSEN1), preseniliny 2 (PSEN2) białka prekursorowego amyloidu (APP) oraz polimorfizm w *locus* apolipoproteiny E (czynnikiem ryzyka AD jest posiadanie przynajmniej jednego allela Apo E4). Geny te są zlokalizowane odpowiednio na chromosomach: 1., 14., 21. i 19. Produkty białkowe tych genów uczestniczą w przemieszczaniu się i cięciu proteolitycznym APP⁽¹⁾.

Błaszki dojrzałe zawierające włókienka amyloidu są zlokalizowane w układzie limbicznym (głównie w hipokampie) oraz polach asocjacyjnych kory mózgu. Występują u wszystkich pacjentów chorych na AD⁽²⁾. Monomerem, z którego składają się włókienka amyloidu jest peptyd $A\beta$ o masie 4-kDa, składający się z 40-43 aminokwasów. $A\beta$ powstaje w wyniku amyloidogennego cięcia proteolitycznego β APP poprzez sekretazy β i γ ⁽¹⁾. Katabolizm (proteoliza) β APP jest złożony. Podstawową drogą metabolizmu β APP jest jego cięcie (*cleavage*) poprzez prawdopodobnie trzy różne enzymy (aktywności enzymatyczne) określane jako sekretazy (α , β i γ). α -sekretaza tnie β APP w obrębie sekwencji transbłonowej, pomiędzy jej 17. a 18. aminokwasem, co prowadzi do uwolnienia rozpuszczalnego dużego fragmentu od N – końca β APP ($s\beta$ APP_N). Pozostały fragment wewnątrzkomórkowy jest dalej cięty przez γ -sekretazę, co prowadzi do powstania nieamyloidogennego peptydu p3. Droga metabolizmu opisana powyżej jest uważana za fizjologiczną i uniemożliwia ona uwalnianie fragmentu $A\beta$, a zatem i odkładanie się amyloidu. W chorobie Alzheimera dominuje alternatywna (amyloidogenna) droga metabolizmu. Kluczową rolę odgrywa w niej aktywność enzymatyczna określana jako β -sekretaza. Enzym ten tnie β APP od końca N w taki sposób, że możliwe jest uwolnienie pełnej sekwencji $A\beta$ po następczym cięciu przez γ -sekretazę od końca C.

Najbardziej konsekwentną teorię patogenezy AD przedstawił Dennis J. Selkoe i nazwał ją hipotezą kaskady amyloidowej. Hipoteza Selkoe, która jest rozwinięciem teorii wybitnego genetyka Johna Hardy'ego, dotyczy w zasadzie rodzinnych form choroby Alzheimera⁽¹⁾. Z uwagi na kluczową rolę amyloidu β w patogenezie AD w celach badawczych stworzono transgeniczne modele zwierzęce AD oraz rozwinięto techniki immunoterapeutyczne, których głównym zadaniem jest usuwanie $A\beta$ z ośrodkowego układu nerwowego (OUN).

MODELE EKSPERYMENTALNE AD

W wielu ośrodkach badawczych stworzono myszy transgeniczne, które wykazują ekspresję „dzikiego” β APP człowieka, fragmentów β APP oraz zmutowanych form β APP

człowieka oraz preseniliny 1⁽³⁾. U myszy transgenicznych, z powodu zwiększonej produkcji $A\beta$, w 6.-9. miesiącu życia pojawiają się blaszki amyloidowe w obrębie hipokampa, ciała modzelowatego oraz kory mózgu. Liczba blaszek, zarówno rozlanych jak i dojrzałych, zwiększa się wraz z wiekiem zwierząt. Modele eksperymentalne posiadają jednak pewne ograniczenia. Ponieważ APP ulega innym modyfikacjom potranslacyjnym, u myszy i u człowieka złogi β -amyloidu różnią się pod względem parametrów biochemicznych i rozpuszczalności. Złogi $A\beta$ są u ludzi wyraźnie trudniej rozpuszczalne. Mimo wyraźnych złogów $A\beta$, u myszy transgenicznych nie pojawia się druga podstawowa cecha AD, a mianowicie NFTs. To ostatnie ograniczenie rozwiązano jednak, tworząc „potrójne” myszy transgeniczne wykazujące ekspresję genów zmutowanego β APP, preseniliny 1 i białka τ ⁽⁴⁾. Badania myszy transgenicznych wykazały, że zaburzenia w funkcjonowaniu synaps oraz zaburzenia funkcji poznawczych pojawiają się, zanim pojawią się wyraźne złogi $A\beta$ ⁽⁵⁾. Ponadto zaburzenia funkcji poznawczych korelują pozytywnie z poziomem rozpuszczalnego $A\beta$ w płynie mózgowo rdzeniowym (CSF). Pokazano, że obecność zewnątrzkomórkowego $A\beta$ doprowadza do zwiększenia wewnątrzkomórkowych złogów $A\beta$, co ma mieć kluczowe znaczenie w rozwoju AD⁽⁶⁾. Badania na „potrójnych” myszach transgenicznych wykazały, że zaburzenia długoterminowej potencjalizacji (*long-term potentiation*) oraz zaburzenia funkcji poznawczych współistnieją z obecnością wewnątrzkomórkowego $A\beta$ i występują zanim pojawią się blaszki amyloidowe i NFT. Rola $A\beta$ w powstawaniu zaburzeń funkcji poznawczych pokazują badania na myszach transgenicznych, które nie wykazują powstawania NFT. Mimo że u zwierząt tych nie istnieje jeden z podstawowych wyznaczników neuropatologicznych AD, a co za tym idzie – nie występuje patologia w zakresie transportu aksonalnego, to u zwierząt tych występują wyraźne zaburzenia funkcji poznawczych⁽⁷⁾. Kolejny dowód na rolę, jaką spełnia $A\beta$ w rozwoju patologii alzheimerowskiej pokazało badanie Oddo i wsp.⁽⁸⁾ W badaniu tym u myszy transgenicznych APP/ τ złogi amyloidu poprzedzały pojawienie się złogów białka τ , które następnie ewoluowały w NFT. Jest to kolejne badanie wskazujące „pierwszeństwo” $A\beta$ nad NFT w rozwoju choroby Alzheimera. Należy dodać, że za rozwój choroby Alzheimera u chorych na zespół Downa (trisomia chromosomu 21) odpowiedzialna jest zwiększona produkcja $A\beta$ związana z posiadaniem dodatkowej, trzeciej kopii genu dla APP⁽¹⁾.

TEORIA NEUROZAPALENIA W AD

Zgodnie z teorią neurozapalenia (*neuroinflammation theory*) AD kluczowym elementem w patomechanizmie choroby jest aktywacja komórki mikroglejowej. Teoria neurozapalenia AD została zainspirowana badaniami,

które opisywały gromadzenie się komórek mikrogleju w obrębie złogów amyloidowych w ludzkich mózgowiach⁽⁹⁾. Wsparcie tej teorii zapewniły też liczne prace pokazujące immunologiczną aktywność mikrogleju. Wspólną obecność komórek mikrogleju i substancji pozapalnych, takich jak cytokiny, składowe dopełniacza, receptory głównego zespołu zgodności tkankowej typu 2 (*major histocompatibility complex*; MHC II) potwierdzono w mózgowiach chorych na AD⁽¹⁰⁾. Badania hodowli komórkowych mikrogleju wykazały, że mikroglej stymulowany przy pomocy A β jest w stanie produkować liczne substancje neurotoksyczne – enzymy proteolityczne, cytokiny, składniki dopełniacza, aktywne formy tlenu, toksyny podobne do NMDA (*like toxins* – NMDA), aktywne formy azotu, TNF α ⁽¹¹⁾. Pierwsze badania epidemiologiczne, które sugerowały korzystny wpływ długotrwałego zażywania niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) na ryzyko rozwoju AD również popierały hipotezę neurozapalenia⁽¹²⁾. Ponadto w badaniach neuropatologicznych obserwowano mniejszą liczbę pobudzonych komórek mikrogleju u pacjentów zażywających NSAIDs⁽¹³⁾. Niestety, żadne z prospektywnych badań z użyciem leków NLPZ nie potwierdziło ich korzystnego wpływu na rozwój AD. Zgodnie z hipotezą neurozapalenia, komórki mikrogleju miały być tymi komórkami, które przebudowują rozlane złogi (*diffuse deposits*) amyloidu w blaszki amyloidowe⁽⁹⁾. W ostatnich latach pogląd ten został zakwestionowany i zaproponowano alternatywne drogi tworzenia się blaszek amyloidowych, m.in. w wyniku rozpadu komórek zawierających wewnątrzkomórkowe złogi A β (neuronów i astrogleju) oraz ewolucji zmian w naczyniach. Złogi A β występują w wielu różnych kształtach i rozmiarach. Ta różnorodność może odzwierciedlać różne mechanizmy powstawania blaszek oraz wynikać z różnic w utrwalaniu i obróbce materiałów biologicznych (utrwalanie, metody barwienia, czas po zgonie, po którym rozpoczęto utrwalanie preparatu itp.)⁽¹⁴⁾. Najczęściej występującymi postaciami złogów amyloidowych są blaszki dojrzałe (*dense-cored plaques*) i blaszki rozlane (*diffuse plaques*). Sugerowano, że te dwa rodzaje złogów różnią się głównie pod względem aktywności komórek glijowych w ich obrębie. W obrębie blaszek dojrzałych opisywane były pobudzone komórki mikroglejowe⁽¹⁵⁾. Natomiast ani w badaniach ludzkich mózgow, ani transgenicznych myszy APP23 aktywowane, wykazujące ekspresję HLA-DR komórki mikrogleju nie występowały w obrębie blaszek rozlanych⁽¹⁶⁾. Twierdzenie, że mikroglej może być odpowiedzialny za tworzenie nowych blaszek amyloidowych jest bardzo mało prawdopodobne. Komórki mikrogleju nie wykazują ekspresji, mRNA dla β APP, nie mogą więc tworzyć nowego A β z endogennego β APP⁽¹⁷⁾. Ponadto za odkładanie złogów amyloidu w mózgowiach osób z zespołem Downa (DS) odpowiada posiadanie przez nich dodatkowej kopii genu β APP, a nie (zwiększonej z jakichś powodów) aktywności mikrogleju⁽¹⁸⁾. Ponadto w mózgowiach chorych

z DS aktywowane komórki mikrogleju są związane tylko z wybranymi typami złogów A β , podobnie jak w AD⁽¹⁹⁾. Pozostaje pytanie – dlaczego komórki mikrogleju gromadzą się prawie wyłącznie wokół blaszek dojrzałych, a nie występują wokół blaszek rozlanych, które przez wielu badaczy uważane są za pierwszy krok w ewolucji złogów amyloidowych, prowadzącej do powstania dojrzałej blaszki starczej?

Coraz więcej danych wskazuje na to, że każdy rodzaj blaszek amyloidowych powstaje w odrębny, specyficzny dla siebie sposób, a nie – jak wcześniej uważano – że różne rodzaje blaszek to różne postaci przejściowe ewolucji jednego rodzaju blaszki⁽²⁰⁾. W wielu badaniach nie udało się udowodnić hipotezy, że rozlane blaszki ewoluują, dojrzewają tworząc blaszkę starczą⁽²⁰⁾. Może to sugerować, że każdy rodzaj blaszki posiada swoją własną drogę powstawania. Mimo opinii wielu badaczy, że blaszki powstają z zewnątrzkomórkowych złogów A β , mogą one również wywodzić się z naczyń krwionośnych, neuronów, wypustek dendrytycznych komórek Purkiniego oraz astrocytów⁽²⁰⁾. Różne drogi powstawania różnych blaszek mogą wyjaśnić, dlaczego niektóre typy blaszek (blaszki dojrzałe) są związane z obecnością mikrogleju, a inne (rozlane) prawie nie. Oprócz A β , blaszki starcze zawierają wiele innych substancji – enzymy lizosomalne, DNA pochodzenia komórkowego, końcowe produkty glikacji (*advanced glycation endproducts* – AGEs) itp. Substancje te są znanymi, silnymi aktywatorami mikrogleju. Ponadto, czyste agregaty A β są raczej słabymi chemoatraktantami *in vitro*⁽²¹⁾. Głównym składnikiem rozlanych blaszek jest prawie „czysty A β ”, słaby aktywator mikrogleju. To wyjaśnia, dlaczego w obrębie tych złogów mikroglej prawie nie jest obecny. Przeciwnie, blaszki starcze bogate są w materiał pochodzenia komórkowego, który jest silnym chemoatraktantem, i jest w stanie pobudzić chemotaksję mikrogleju w kierunku środka blaszki. Jednym z materiałów aktywujących mikroglej, a znajdujących się w obrębie blaszek, są resztki pochodzące z jądra komórkowego. Zdolne do dyfuzji nukleotydy uczestniczą w chemotaksji poprzez aktywację receptorów P2Y⁽²²⁾. Neurony zdolne są również do produkcji składowych dopełniacza, które opsonizują A β . Zopsonizowany A β jest rozpoznawany i fagocytowany przez mikroglej przy pomocy receptorów mikroglejowych dla składowych dopełniacza⁽²³⁾. W fagocytozie A β uczestniczą również mikroglejowe receptory Sc (*scavenger receptors*) klasy A i B, CD36 oraz receptory Fc⁽²⁴⁾. Silnym aktywatorem mikrogleju jest również receptor dla AGE (RAGE), amyloid β jest znanym ligandem RAGE⁽²⁵⁾. Za działanie prozapalne odpowiedzialny jest również receptor FPRL1 (*formyl peptide receptor-like 1*)⁽²⁶⁾. Odpowiada on za aktywację, migrację i polaryzację komórek mikrogleju w odpowiedzi na A β . Z uwagi na zastosowanie immunoterapii, która powoduje wytwarzanie przeciwciał przeciwko A β , szczególnie ważne są więc receptory dla fragmentów Fc immunoglobulin. Przeciwciała anty

A β powodują, że ten mało atrakcyjny dla mikrogleju peptyd staje się dla niego „łakomym kąskiem”.

NIESTEROIDOWE LEKI PRZECIWPALNE W LECZENIU CHOROBY ALZHEIMERA

W wielu badaniach epidemiologicznych zaobserwowano, że osoby przewlekle przyjmujące leki przeciwzapalne z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NSAIDs) posiadają zmniejszone ryzyko zachorowania na AD. Badania prospektywne z użyciem zarówno leków nieselektywnych, jak i selektywnych inhibitorów cyklo-oxygenazy 2 (COX2) nie potwierdziły jednak pozytywnego wpływu tych leków na przebieg choroby⁽⁴⁾. Wiele danych wskazuje na to, że wpływ leków NSAIDs na produkcję A β wynika nie z hamowania produkcji prostaglandyn i zmniejszania stanu zapalnego⁽²⁷⁾, ale z modulującego działania niektórych z tych substancji na β - i γ -sekreazy. NSAIDs mogą też wpływać na procesowanie APP poprzez swoje działania na białko MRP4 (*multidrug resistance protein 4*)⁽²⁸⁾. MRP4 ulega ekspresji w mózgu oraz wielu innych tkankach i uczestniczy w transporcie do wnętrza komórek wielu fizjologicznych substratów, m.in. cyklicznych nukleotydów, steroidów, kwasu foliowego i prostaglandyn⁽²⁸⁾. Niektóre substraty MRP4, takie jak cAMP i nieskoniugowany estradiol wpływają na powstawanie A β poprzez nasilenie aktywności kinazy białkowej A i wpływ na dojrzewanie APP⁽²⁹⁾. Wiele badań prowadzonych na myszach transgenicznych pokazało, że stosowanie NSAIDs zmniejsza poziom A β_{1-42} , ale pozytywne efekty badań epidemiologicznych mogą wynikać nie z działania przeciwzapalnego NSAIDs, ale z ich wpływu modulującego na produkcję A β z β APP. Może okazać się, że hamowanie procesu zapalnego w AD nie jest zjawiskiem pozytywnym. Pobudzenie aktywności mikrogleju jest zaś korzystne. W badaniu Jantzen i wsp.⁽³⁰⁾ podawano myszom transgenicznym (wykazującym ekspresję APP) niesteroidowy lek przeciwzapalny NCX-2216, który zwiększa wydzielanie NO i w tym mechanizmie zwiększa aktywację mikrogleju. W grupie leczonej NCX-2216 znacznie zmniejszyła się zawartość A β w mózgach myszy, a spadek ten był wyraźnie większy, niż w grupach leczonych zarówno ibuprofenem (nieselektywny lek przeciwzapalny) jak i celekoksybem (selektywnym inhibitorem COX 2).

W przeciwieństwie do silnych leków przeciwzapalnych stosowanych w leczeniu AD, które okazały się nieskuteczne w leczeniu choroby, słabo działający przeciwzapalnie R-flurbiprofen jest obecnie w II fazie badań klinicznych a efekty jego działania są obiecujące. W grupie pacjentów z łagodnym otępieniem w AD otrzymujących R-flurbiprofen uzyskano mniejszy o 62% spadek w skali mierzącej aktywności dnia codziennego w porównaniu z grupą otrzymującą placebo⁽³¹⁾. Główne działanie

R-flurbiprofenu polega jednak nie na hamowaniu cyklo-oxygenazy, ale na blokowaniu aktywności γ -sekreazy.

ODPOWIED IMMUNOLOGICZNA ORGANIZMU NA A β

ODPOWIED HUMORALNA

Limfocyty B człowieka posiadają potencjalną zdolność do produkcji przeciwciał przeciwko A β . Po raz pierwszy wykazano tą zdolność w badaniu, w którym oceniano metodą ELISA zdolność limfocytów B przekształcanych przy pomocy wirusa Epsteina-Barra (EBV) do produkcji przeciwciał. Wyraźnie większa liczba linii komórkowych limfocytów B pobranych od chorych na AD (2%) wykazywała zdolność produkcji przeciwciał anty A β , w porównaniu z limfocytami pobranymi w grupie kontrolnej (0,2%). Nie oceniono jednak, czy dawcy posiadający większy procent komórek produkujących przeciwciała anty A β posiadają również większe stężenie przeciwciał we krwi obwodowej⁽³²⁾.

W wielu publikacjach opisywano obecność przeciwciał anty A β we krwi oraz w płynie mózgowo rdzeniowym zarówno u zdrowych osób, jak i chorych na AD^(33,34). Niejednoznaczne są jednak wyniki badań porównujących poziomy A β we krwi i płynie mózgowo rdzeniowym u pacjentów chorych i zdrowych⁽³⁵⁾.

ODPOWIED KOMÓRKOWA

Odpowiedź humoralna na jakikolwiek antygen wymaga obecności pomocniczych limfocytów T (LT_h), których aktywność w wieku podeszłym jest obniżona⁽³⁶⁾. Obniżona jest też odpowiedź limfocytów T na A β w wieku podeszłym⁽³⁷⁾. W badaniu tym odpowiedź proliferacyjna limfocytów T na stymulację A β była wyraźnie mniejsza w grupie pacjentów z AD w porównaniu z grupą zdrowych młodych oraz pacjentów starszych – zdrowych, bez cech otępienia. Mniejszą aktywność komórek Th w stosunku do A β obserwuje się również u myszy transgenicznych wykazujących ekspresję APP człowieka⁽³⁸⁾. Z drugiej strony w badaniu opublikowanym przez Mansonego i wsp.⁽³⁹⁾ wykazano, że limfocyty T pobrane zarówno od zdrowych starszych oraz chorych na AD pacjentów wykazują większą aktywację na A β , w porównaniu z grupą kontrolną pacjentów w średnim wieku. Zrozumienie aktywacji LT_h w przebiegu AD stało się niezmiernie ważne z powodu immunoterapii zastosowanej w leczeniu choroby. Uważa się bowiem, że za rozwój zapalenia opon mózgowych i mózgu w następstwie immunizacji szczepionką zawierającą A β odpowiedzialne jest nadmierne pobudzenie limfocytów T^(39,40). Należy tutaj dodać, że w badaniach na modelach zwierzęcych nie obserwowano nigdy rozwoju stanu zapalnego OUN, a przyczyna rozwoju zapalenia u ludzi nie jest jasna.

IMMUNOTERAPIA W CHOROBY ALZHEIMERA

PRZECIWCIAŁA ANTY A β

Wyniki wielu badań wskazują, że specyficzne przeciwciała anty A β oczyszczają złogi amyloidu zarówno w warunkach *in vitro*⁽⁴¹⁾ jak i *in vivo* w mózgach myszy transgenicznych⁽⁴²⁻⁴⁴⁾. Pierwsze badania pokazywały, że przeciwciała specyficzne dla obszaru końca N cząsteczki amyloidu β mogą *in vitro* zapobiegać formowaniu się włókienek amyloidowych, zwiększając rozpuszczalność A β ⁽⁴¹⁾, a przez to zmniejszając toksyczność amyloidu w stosunku do neuronów. Udało się zidentyfikować epitop rozpoznawany przez te przeciwciała (pozycje 3-6 w końcu N cząsteczki A β). Zastosowanie przeciwciał przeciwko temu epitopowi, nie tylko zapobiega odkładaniu się amyloidu, ale również powoduje rozpuszczanie obecnych wcześniej złogów *in vitro*⁽⁴⁵⁾.

AKTYWNA IMMUNIZACJA A β

Aktywna immunizacja myszy transgenicznych, polegająca na parenteralnym podaniu pełnej cząsteczki A β w połączeniu z kompletnym adjuwantem Freund'a, która następnie była wzmacniana ponownym podaniem A β w połączeniu z niekompletnym adjuwantem Freund'a, powodowała wyraźne zmniejszenie zawartości złogów β -amyloidu w mózgach myszy. Występowało również zmniejszenie liczby dystroficznych neurytów oraz mniejszy rozplam gleju (gliozja)⁽⁴³⁾. Zmniejszanie zawartości amyloidu obserwowano również po wielokrotnym donosowym podaniu A β u myszy transgenicznych wykazujących ekspresję ludzkiego APP⁽⁴⁴⁾. Zmniejszenie zawartości A β wyraźnie korelowało w tych badaniach z poziomem specyficznych przeciwciał anty A β . W przypadku immunizacji donosowej, oprócz pojawienia się specyficznych przeciwciał anty A β w mózgu, dodatkowo pojawiał się naciek komórek jednojądrzastych o właściwościach przeciwdziałających, tzn. produkujących IL-4, IL10 i TGF- β ⁽⁴⁴⁾. Warto podkreślić, że stosując aktywną immunizację można zapobiec występowaniu deficytów poznawczych u myszy transgenicznych wykazujących ekspresję APP⁽⁴²⁾. Takie działanie protekcyjne można uzyskać, stosując do immunizacji zarówno całą cząsteczkę A β ₁₋₄₂, jak i mały fragment uzyskany z jej cięcia⁽⁴⁶⁾ i zawierający epitop Glu-Phe-Arg-His – czyli pozycje 3-6 z łańcucha A β ⁽⁴⁷⁾. Co ciekawe, immunizacja donosowa może być skuteczne nawet wtedy, gdy organizm nie potrafi wyprodukować specyficznych przeciwciał. Donosowa immunizacja prowadzona u myszy z niedoborem immunologicznym w zakresie limfocytów B (brak możliwości syntezy łańcucha μ immunoglobulin) powodowała, mimo braku przeciwciał, zmniejszenie zawartości A β w mózgach, a efekt ten był tym wyraźniejszy, im bardziej nasiloną była reakcja mikrogleju⁽⁴⁸⁾.

BIERNA IMMUNIZACJA PRZECIWCIAŁAMI ANTY A β

Podawanie parenteralne przeciwciał monoklonalnych przeciwko syntetycznym peptydom uzyskanym z cząsteczki A β było skuteczne w zmniejszaniu zawartości amyloidu w mózgach i zmniejszaniu zaburzeń pamięci podczas badań na zwierzęcych modelach eksperymentalnych AD⁽⁴⁹⁾. Początkowo wyniki badań wskazywały, że usuwanie A β z mózgu po podaniu parenteralnym specyficznych immunoglobulin (Ig) zależy głównie od ich zdolności do przejścia przez barierę krew – mózg i aktywacji komórek mikrogleju. Następnie okazało się, że siła, z jaką przeciwciała wpływają na złogi amyloidu zależy od tego, czy rozpoznają one sekwencję 1-6 albo 4-6 końca N cząsteczki A β , czyli w jaki sposób wpływają na rozpuszczalność amyloidu⁽⁵⁰⁾. Kolejne badania pokazały, że bierna immunizacja przeciwciałami antyA β może wpływać pozytywnie na funkcje poznawcze, nawet jeśli po leczeniu nie zwiększa się całkowita zawartość złogów amyloidu w obrębie OUN. Efekt ten może wynikać z usuwania rozpuszczalnych form A β z mózgu i ich przejściu do płynów obwodowych – tzw. hipoteza zlewu (*peripheral sink hypothesis*). Należy również dodać, że w badaniach na potrójnych myszach transgenicznych, wykazujących ekspresję APP, preseniliny 1 i białka τ , podanie do hipokampów przeciwciał antyA β powodowała nie tylko zmniejszenie zewnątrzkomórkowego A β , ale również jego frakcji wewnątrzkomórkowej oraz, co bardzo istotne, zmniejszenie powstawania NFTs⁽⁸⁾. Postuluje się więc istnienie przynajmniej trzech mechanizmów wyjaśniających sposób, w jaki przeciwciała anty A β uczestniczą w zmniejszaniu depozytów amyloidowych w OUN.

Pierwszym możliwym mechanizmem jest bezpośredni wpływ przeciwciał na włókienka amyloidowe prowadzący do ich rozpuszczenia⁽⁴¹⁾ oraz usuwania toksycznych oligomerów A β ⁽⁵¹⁾. Po domózgowym podaniu przeciwciał następuje zmniejszenie zawartości amyloidu pod warunkiem, że przeciwciała rozpoznają epitopy zlokalizowane na końcu N cząsteczki A β . Podobne wyniki uzyskiwane są zarówno w badaniach *in vivo* jak i *in vitro*⁽⁴¹⁾. Drugim mechanizmem jest usuwanie amyloidu w mechanizmie zależnej od receptora Fc (FcR) fagocytozy przez komórki mikrogleju^(43,52). Po podaniu parenteralnym przeciwciał anty A β zwiększa się aktywacja mikrogleju w okolicach blaszek amyloidowych w mózgu. Zjawisko to jest jednak słabo widoczne u myszy transgenicznych, u których w porównaniu ze szczepami „dzikimi” występuje zaburzenie aktywacji mikrogleju⁽⁵²⁾.

Trzeci mechanizm, nazywany „hipotezą zlewu”, polega na tym, że podanie obwodowe przeciwciał powoduje wpływ A β z mózgu do osocza⁽⁴⁹⁾. Badania, pokazujące szybką poprawę funkcji poznawczych po dożylnym podaniu przeciwciał, przemawiają za tym mechanizmem. Ponadto przeciwciała, które skierowane są przeciwko

epitopom w obrębie środka łańcucha A β , mimo że nie łączą się ze złogami amyloidu (te epitopy są wówczas ukryte) powodują zmniejszenie zawartości A β w mózgu⁽⁴⁹⁾. Oznacza to, że obwodowe podanie przeciwciał anty A β powoduje zmniejszenie zawartości wolnego A β w osoczu, zmianę równowagi dynamicznej w systemie mózg – osocze i w następstwie wypływ A β z mózgu. Prawdopodobnie wszystkie te mechanizmy uczestniczą w procesie usuwania złogów amyloidu z mózgow w następstwie immunizacji.

MIKROKRWAWIENIA W OBRĘBIE MÓZGU – MOŻLIWE POWIKŁANIE IMMUNIZACJI A β

Mikrokrwawienia obserwowano w obrębie mózgow myszy poddanych biernej immunizacji przeciwciałami anty A β ⁽⁵³⁾. Powodem jest najprawdopodobniej reakcja przeciwciał z A β zlokalizowanych w ścianach naczyń krwionośnych w obrębie kongofilnej angiopatii. Reakcja ta prowadzi do wzrostu przepuszczalności i osłabienia ścian naczyń i w rezultacie do niewielkich krwawień⁽⁵⁴⁾. Dotychczas mikrokrwawienia były obserwowane jedynie w przypadku badań z bierną immunizacją (i to nie wszystkich). Możliwe jest, że również aktywna immunizacja może być obciążona takim powikłaniem. Konieczne jest więc zachowanie szczególnej ostrożności podczas badań klinicznych.

IMMUNOTERAPIA CHOROBY ALZHEIMERA – BADANIA KLINICZNE

Z uwagi na pozytywne wyniki badań szczepień A β prowadzonych na myszach transgenicznym rozpoczęto badania na ludziach. Badania Fazy I, w których stosowano syntetyczny analog A β ₁₋₄₂ – AN1792 w połączeniu z adjuwantem stymulującym aktywność limfocytów Th-QS21, pokazały, że wielokrotne podawanie iniekcji z tak skonstruowanej szczepionki jest bezpieczne i dobrze tolerowane⁽⁵⁵⁾. Do badania Fazy II włączono 372 pacjentów z rozpoznaniem łagodnego i umiarkowanego otępienia w przebiegu choroby Alzheimer. Pacjenci byli randomizowani albo do grupy otrzymującej domięśniowe iniekcje AN1792 plus QS21, albo otrzymywali placebo. Planowane były iniekcje w dniu 0, oraz w 1., 3., 6., 9. i 12. miesiącu. Niestety, badanie zostało przerwane z powodu działań niepożądanych. U 18, z 298 pacjentów otrzymujących szczepionkę (6% pacjentów), rozwinęły się objawy zapalenia opon mózgowych i mózgu. W grupie placebo nie odnotowano żadnego takiego przypadku⁽⁵⁶⁾. Z 18 pacjentów z zapaleniem opon mózgowych i mózgu (*meningoencephalitis*) u 12 stan zdrowia powrócił do stanu sprzed choroby w ciągu kilku tygodni. U sześciorga pozostały jednak deficyty neurologiczne i funkcji poznawczych⁽⁵⁶⁾. Wszyscy pacjenci, którzy wzięli udział w badaniu byli długotrwale obserwowani po zakończeniu badania.

W badaniu Fazy II u 59 pacjentów, z 298 otrzymujących szczepionkę (19,7%), pojawiły się przeciwciała antyA β ⁽⁵⁷⁾. U 30 z nich przeciwciała posiadały zdolność reagowania z amyloidem w obrębie blaszek amyloidowych. Podgrupa ta odróżniała się od innych pacjentów wyraźnie wolniejszym tempem progresji choroby⁽⁵⁸⁾. Grupa osób, u których pojawiły się przeciwciała w odpowiedzi na szczepienie AN1792+QS21 nie różniła się jednak jako całość z grupą placebo w wynikach testów neuropsychologicznych. Pewne różnice na korzyść grupy pacjentów, którzy zareagowali pozytywnie na szczepienie zauważono, gdy porównywano niektóre składowe zastosowanych baterii testów⁽⁵⁷⁾. W innej analizie tej samej grupy pacjentów zaobserwowano, że osoby, które posiadały przeciwciała anty A β cechowały się szybszym spadkiem objętości mózgu po 12 miesiącach od drugiego szczepienia, a spadek ten korelował pozytywnie z lepszymi wynikami w testach funkcji poznawczych. Przyjmuje się, że za spadek objętości mózgu odpowiedzialne jest usuwanie mózgowych złogów amyloidu. Nadal brakuje odpowiedzi na pytanie, czy przy dłuższym okresie obserwacji taki trend by się utrzymał, czy wręcz przeciwnie – odwrócił? W mózgach osób uczestniczących w badaniu, a które zmarły obserwowano wyraźnie pobudzone komórki mikrogleju w obrębie blaszek amyloidowych i to zarówno u tych z zapaleniem opon mózgowych i mózgu^(59,60), jak i bez cech zapalenia⁽⁶¹⁾.

Nie zaobserwowano zależności pomiędzy obecnością przeciwciał anty A β , ich koncentracją, a wystąpieniem przypadków zapalenia opon mózgowych i mózgu^(56,57). Zaobserwowano natomiast, że w przypadkach zapalenia mózgu w następstwie szczepienia AN1792 obecne są w mózgu nacieki limfocytarne komórek CD4+ i CD8+⁽⁵⁹⁾. Obecnie przyjmuje się więc, że za rozwój zapalenia mózgu po szczepieniu AN1792 w połączeniu z QS21 odpowiedzialne jest pobudzenie reaktywności limfocytów T cytoksycznych (CD8+) w stosunku do A β . Należy jednak podkreślić, że takie limfocyty znajdują się również u starszych osób i pacjentów chorych na AD, które nie były poddawane aktywnej immunizacji⁽⁶²⁾.

W poszukiwaniu czynników ryzyka rozwoju zapalenia mózgu poddano analizie ekspresji RNA próbki krwi pobrane przed szczepieniem i po szczepieniu An1792. Czynnikiem ryzyka rozwoju zapalenia okazała się zwiększona ekspresja genów cytokin pozapalnych, w tym TNF⁽⁶³⁾. Silną korelację odnotowano również pomiędzy ekspresją białek uczestniczących w syntezie peptydów, w przemieszczaniu białek, rekombinacji DNA, naprawy DNA oraz białek cyklu komórkowego, a produkcją przeciwciał anty A β . W przyszłości oznaczanie różnych biomarkerów może okazać się bardzo przydatne w odpowiednim doborze składu szczepionki – rodzaju peptydu oraz doboru adiuwantu.

Obecnie prowadzone są przynajmniej dwa badania aktywnej immunizacji Fazy I z użyciem ACC-001 (Elan Corporation Inc. And Wyeth), który zawiera fragment

A β_{1-7} ⁽⁶⁴⁾ oraz CAD 106 (Immunodrug™, Cytos Biotechnology AG i Novartis Pharma AG), który jest zmodyfikowanym fragmentem A β . W II Fazie badań klinicznych jest też humanizowane przeciwciało monoklonalne anty A β .

PODSUMOWANIE

Podejście immunoterapeutyczne staje się coraz ważniejsze w opracowywaniu leczenia choroby o tak złym rokowaniu jak choroba Alzheimera. Mimo bardzo obiecujących badań na modelach zwierzęcych, należy podchodzić z wielką ostrożnością do badań na ludziach. W oczyszczaniu mózgu ze złogów amyloidu uczestniczą i składowe komórkowe układu immunologicznego, i humoralne. I to zarówno wrodzonego układu odpornościowego (białka dopełniacza), jak i odporności nabytej (przeciwciała antyA β). Przeciwciała wytwarzane w drodze aktywnej immunizacji lub podane parenteralnie mogą rozpuszczać złogi amyloidu, nasilać fagocytozę przez komórki mikrogleju oraz powodować przepływ A β z mózgu do tkanek obwodowych. Oprócz działań służących nasileniu odpowiedzi humoralnej na zawartość amyloidu w OUN można wpływać, nasilając aktywację mikrogleju oraz modulując odpowiedź limfocytów Th.

Bardzo atrakcyjną cechą immunoterapii jest potencjalne działanie prewencyjne, które zapewni możliwość zabezpieczenia się przed chorobą Alzheimera. Być może w przyszłości będziemy mieli dostępną szczepionkę, a choroba Alzheimera odejdzie do historii.

PIŚMIENNICTWO:

- Hardy J., Selkoe D.J.: The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002; 297: 353-356.
- Braak H., Braak E.: Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1991; 82 (4): 239-259.
- Games D., Adams D., Alessandrini R. i wsp.: Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F β -amyloid precursor protein. *Nature* 1995; 373: 523-527.
- Oddo S., Caccamo A., Shepherd J.D. i wsp.: Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. *Neuron* 2003; 39: 409-421.
- Hsia A.Y., Masliah E., McConlogue L. i wsp.: Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer's disease mouse models. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 1999; 96: 3228-3233.
- Gouras G.K., Tsai J., Naslund J. i wsp.: Intraneuronal Abeta42 accumulation in human brain. *Am. J. Pathol.* 2000; 156: 15-20.
- Chen G., Chen K.S., Knox J. i wsp.: A learning deficit related to age and beta-amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nature* 2000; 408: 975-979.
- Oddo S., Billings L., Kesslak J.P. i wsp.: Abeta immunotherapy leads to clearance of early, but not late, hyperphosphorylated tau aggregates via the proteasome. *Neuron* 2004; 43: 321-332.
- Haga S., Akai K., Ishii T.: Demonstration of microglial cells in and around senile (neuritic) plaques in the Alzheimer brain. An immunohistochemical study using a novel monoclonal antibody. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1989; 77: 569-575.
- Rogers J., Cooper N.R., Webster S. i wsp.: Complement activation by beta-amyloid in Alzheimer disease. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 1992; 1; 89: 10016-10020.
- Meda L., Cassatella M.A., Szendrei G.I. i wsp.: Activation of microglial cells by beta-amyloid protein and interferon-gamma. *Nature* 1995; 13; 374: 647-650.
- Akiyama H., Barger S., Barnum S. i wsp.: Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 2000; 21: 383-421.
- Mackenzie I.R., Munoz D.G.: Nonsteroidal anti-inflammatory drug use and Alzheimer-type pathology in aging. *Neurology* 1998, Apr. 50 (4): 986-990.
- D'Andrea M.R., Reiser P.A., Polkovich D.A. i wsp.: The use of formic acid to embellish amyloid plaque detection in Alzheimer's disease tissues misguides key observations. *Neurosci. Lett.* 2003; 342 (2): 114-118.
- McGeer P.L., Klegeris A., Walker D.G. i wsp.: Pathological proteins in senile plaques. *Tohoku J. Exp. Med.* 1994; 174: 269-277.
- Van Groen T., Liu L., Ikonen S., Kadish I.: Diffuse amyloid deposition, but not plaque number, is reduced in amyloid precursor protein/presenilin 1 double-transgenic mice by pathway lesions. *Neuroscience* 2003; 119: 1185-1197.
- Shaffer L.M., Dority M.D., Gupta-Bansal R. i wsp.: Amyloid β protein (A β) removal by neuroglial cells in culture. *Neurobiol. Aging* 1995; 16 (5): 737-745.
- Lemere C.A., Blusztajn J.K., Yamaguchi H. i wsp.: Sequence of deposition of heterogeneous amyloid beta-peptides and Apo E in Down syndrome: implications for initial events in amyloid plaque formation. *Neurobiol. Dis.* 1996; 3: 26-32.
- Motte J., Williams R.S.: Age-related changes in the density and morphology of plaques and neurofibrillary tangles in Down syndrome brain. *Acta Neuropathol.* 1989; 77: 535-546.
- Wojtera M., Sikorska B., Sobow T., Liberski P.P.: Microglial cells in neurodegenerative disorders. *Folia Neuropathol.* 2005; 43: 311-321 (review).
- Meda L., Baron P., Scarlato G.: Glial activation in Alzheimer's disease: the role of Abeta and its associated proteins. *Neurobiol. Aging* 2001; 22: 885-893.
- Honda S., Sasaki Y., Ohsawa K. i wsp.: Extracellular ATP or ADP induce chemotaxis of cultured microglia through Gi...o-coupled P2Y receptors. *J. Neurosci.* 2001; 21: 1975-1982.
- Shen Y., Li R., McGeer E.G., McGeer P.L.: Neuronal expression of mRNAs for complement proteins of the classical pathway in Alzheimer brain. *Brain Res.* 1997; 769: 391-395.
- Paresce D.M., Ghosh R.N., Maxfield F.R.: Microglial cells internalize aggregates of the Alzheimer's disease amyloid beta-protein via a scavenger receptor. *Neuron* 1996; 17: 553-565.
- Wyss-Coray T., McConlogue L., Kindy M. i wsp.: Key signaling pathways regulate the biological activities and accumulation of amyloid- β . *Neurobiol. Aging* 2001; 22: 967-973.
- Yazawa H., Yu Z.X., Takeda, Le Y. i wsp.: Beta amyloid peptide (Abeta42) is internalized via the G-protein-coupled receptor FPRL1 and forms fibrillar aggregates in macrophages. *FASEB J.* 2001; 15: 2454-2462.
- Weggen S., Eriksen J.L., Das P. i wsp.: A subset of NSAIDs lower amyloidogenic A β 42 independently of cyclooxygenase activity. *Nature* 2001; 414: 212-216.

28. Takahashi Y., Hayashi I., Tominari Y. i wsp.: Sulindac sulfide is a noncompetitive γ -secretase inhibitor that preferentially reduces A β 42 generation. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 18664-18670.
29. Marambaud P., Anclolio K., Lopez-Perez E., Checler F.: Proteasome inhibitors prevent the degradation of familial Alzheimer's disease-linked presenilin 1 and potentiate A β 42 recovery from human cells. *Mol. Med.* 1998; 4: 147-157.
30. Jantzen P.T., Connor K.E., DiCarlo G. i wsp.: Microglial activation and beta-amyloid deposit reduction caused by a nitric oxide-releasing nonsteroidal anti-inflammatory drug in amyloid precursor protein plus presenilin-1 transgenic mice. *J. Neurosci.* 2002 Mar 15; 22 (6): 2246-2254.
31. Myriad. Molecule of the month. MPC-7869 (Flurizan). *Drug News Perspect.* 2005; 18: 141.
32. Xu S., Gaskin F.: Increased incidence of antibeta-amyloid autoantibodies secreted by Epstein – Barr virus transformed B cell lines from patients with Alzheimer's disease. *Mech. Ageing Dev.* 1997; 94: 213-222.
33. Hyman B.T., Smith C., Buldyrev I. i wsp.: Autoantibodies to amyloidbeta and Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* 2001; 49: 808-810.
34. Brettschneider S., Morgenthaler N.G., Teipel S.J. i wsp.: Decreased serum amyloid beta (1-42) autoantibody levels in Alzheimer's disease, determined by a newly developed immuno-precipitation assay with radiolabeled amyloid beta (1-42) peptide. *Biol. Psychiatry* 2005, Apr 1; 57 (7): 813-816.
35. Weksler M.E., Gouras G., Relkin N.R., Szabo P.: The immune system, amyloid-b peptide, and Alzheimer's disease. *Immunological Reviews* 2005; 205: 244-256.
36. Weksler M.E., Relkin N., Turkenich R. i wsp.: Patients with Alzheimer disease have lower levels of serum anti-amyloid peptide antibodies than healthy elderly individuals. *Exp. Gerontol.* 2002; 37: 943-948.
37. Trieb K., Ransmayr G., Sgonc R. i wsp.: APP peptides stimulate lymphocyte proliferation in normals, but not in patients with Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 1996; 17: 541-547; 2002; 298: 137.
38. Monsonego A., Maron R., Zota V. i wsp.: Immune hyporesponsiveness to amyloid beta-peptide in amyloid precursor protein transgenic mice: implications for the pathogenesis and treatment of Alzheimer's disease. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 2001; 98: 10273-10278.
39. Monsonego A., Weiner H.L.: Immunotherapeutic approaches to Alzheimer's disease. *Science* 2003; 302: 834-838.
40. Weiner H.L., Selkoe D.J.: Inflammation and therapeutic vaccination in CNS diseases. *Nature* 2002; 420: 879-884.
41. Solomon B., Koppel R., Frenkel D., Hanan-Aharon E.: Disaggregation of Alzheimer β -amyloid by site-directed mAb. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 1997; 94: 4109-4112.
42. Janus C., Pearson J., McLaurin J. i wsp.: A β peptide immunization reduces behavioural impairment and plaques in a model of Alzheimer's disease. *Nature* 2000; 408: 979-982.
43. Schenk D., Barbour R., Dunn W. i wsp.: Immunization with amyloid- β attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature* 1999; 400: 173-177.
44. Weiner H.L., Lemere C.A., Maron R. i wsp.: Nasal administration of amyloid- β peptide decreases cerebral amyloid burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* 2000; 48: 567-579.
45. Frenkel D., Balass M., Solomon B.: N-terminal EFRH sequence of Alzheimer's β -amyloid peptide represents the epitope of its anti-aggregating antibodies. *J. Neuroimmunol.* 1998; 88: 85-90.
46. Sigurdsson E.M., Scholtzova H., Mehta P.D. i wsp.: Immunization with a nontoxic/nonfibrillar amyloid- β homologous peptide reduces Alzheimer's disease-associated pathology in transgenic mice. *Am. J. Pathol.* 2001; 159: 439-447.
47. Frenkel D., Katz O., Solomon B.: Immunization against Alzheimer's β -amyloid plaques via EFRH phage administration. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 2000; 97: 11455-11459.
48. Frenkel D., Maron R., Burt D.S., Weiner H.L.: Nasal vaccination with a proteasome-based adjuvant and glatiramer acetate clears β -amyloid in a mouse model of Alzheimer disease. *J. Clin. Invest.* 2005; 115: 2423-2433.
49. DeMattos R.B., Bales K.R. i wsp.: Peripheral anti-A β antibody alters CNS and plasma A β clearance and decreases brain A β burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 2001; 98: 8850-8855.
50. Lee E.B., Leng L.Z., Zhang B. i wsp.: Targeting A β oligomers by passive immunization with a conformation selective monoclonal antibody improves learning and memory in APP transgenic mice. *J. Biol. Chem.* 2005; 281: 4292-4299.
51. Klyubin I., Walsh D.M., Lemere C.A. i wsp.: Amyloid β protein immunotherapy neutralizes A β oligomers that disrupt synaptic plasticity in vivo. *Nature Med.* 2005; 11: 556-561.
52. Wilcock D.M., Munireddy S.K., Rosenthal A. i wsp.: Microglial activation facilitates A β plaque removal following intracranial anti-A β antibody administration. *Neurobiol. Dis.* 2004; 15: 11-20.
53. Pfeifer M., Boncristiano S., Bondolfi L. i wsp.: Cerebral hemorrhage after passive anti-A β immunotherapy. *Science* 2002; 298: 1379.
54. Racke M.M., Boone L.I., Hepburn D.L. i wsp.: Exacerbation of cerebral amyloid angiopathy-associated microhemorrhage in amyloid precursor protein transgenic mice by immunotherapy is dependent on antibody recognition of deposited forms of amyloid β . *J. Neurosci.* 2005; 25: 629-636.
55. Bayer A.J., Bullock R., Jones R.W. i wsp.: Evaluation of the safety and immunogenicity of synthetic A β 42 (AN1792) in patients with AD. *Neurology* 2005; 64: 94-101.
56. Orgogozo J.M., Gilman S., Dartigues J.F. i wsp.: Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after A β 42 immunization. *Neurology* 2003; 61: 46-54.
57. Gilman S., Koller M., Black R.S. i wsp.: Clinical effects of A β immunization (AN1792) in patients with AD in an interrupted trial. *Neurology* 2005; 64: 1553-1562.
58. Hock C., Konietzko U., Streffer J.R. i wsp.: Antibodies against β -amyloid slow cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neuron* 2003; 38: 547-554.
59. Ferrer L., Boada Rovira i wsp.: Neuropathology and pathogenesis of encephalitis following amyloid- β immunization in Alzheimer's disease. *Brain Pathol.* 2004; 14: 11-20.
60. Nicoll J.A., Wilkinson D., Holmes C. i wsp.: Neuropathology of human Alzheimer disease after immunization with amyloid- β peptide: a case report. *Nature Med.* 2003; 9: 448-452.
61. Masliah E., Hansen L., Adame A. i wsp.: A β vaccination effects on plaque pathology in the absence of encephalitis in Alzheimer disease. *Neurology* 2005; 64: 129-131.
62. Monsonego A., Zota V., Karni A. i wsp.: Increased T cell reactivity to amyloid beta protein in older humans and patients with Alzheimer disease. *J. Clin. Invest.* 2003; 112: 415-422.
63. O'Toole M., Janszen D.B., Slonim D.K. i wsp.: Risk factors associated with β -amyloid1-42 immunotherapy in preimmunization gene expression patterns of blood cells. *Arch. Neurol.* 2005; 62: 1531-1536.
64. Schenk D., Hagen M., Seubert P.: Current progress in β -amyloid immunotherapy. *Curr. Opin. Immunol.* 2004; 16: 599-606.