

5

Perspectives pharmacologiques innovantes et biomarqueurs

Ce chapitre est consacré aux thérapeutiques innovantes, mais qu'est-ce qu'une thérapeutique innovante pour la maladie d'Alzheimer ? Une thérapeutique déjà utilisée qui fait appel à un concept récent et novateur ou une thérapeutique encore putative fondée sur des pistes avérées expérimentalement mais qui demandent encore à être étayées chez l'homme ? Les quelques thérapeutiques utilisées actuellement sont fondées sur des observations souvent anciennes (stratégie anti-acétylcholinestérasique) ou plus récentes (stratégie anti-glutamatergique) mais ne peuvent être réellement considérées comme des thérapeutiques innovantes. Elles seront donc rapidement passées en revue puisque traitées ailleurs. Les thérapeutiques potentiellement innovantes sont issues des avancées récentes et n'en sont souvent qu'à leurs balbutiements. Elles sont souvent focalisées autour du peptide amyloïde, que ce soit sa formation ou les conséquences cellulaires de sa surproduction. Ce chapitre est donc centré sur les différentes approches thérapeutiques (tableau 5.1) que l'on peut prospectivement proposer et qui sont pour certaines très prometteuses et pour d'autres, se heurtent à des problèmes conceptuels ou théoriques qui seront abordés ici.

Tableau 5.1 : Différentes approches thérapeutiques pour la maladie d'Alzheimer

Stratégies thérapeutiques
Inhibiteurs d'acétylcholinestérase
Approche anti-glutamatergique
Inhibiteurs de β - et γ -sécrétases
Activateurs de l' α -sécrétase
Activateurs des enzymes de dégradation du peptide A β
Agents réducteurs du cholestérol
Anti-inflammatoires non stéroïdiens
Substituts hormonaux
Anti-oxydants
Anti-agrégants

Stratégies thérapeutiques

Chélateurs de métaux

Thérapie génique

Immunothérapie

Inhibiteurs de kinases

Activateurs de phosphatases

Stratégies thérapeutiques « d'actualité »

Sont rassemblés ici les traitements actuels.

Inhibiteurs d'acétylcholinestérase

L'observation d'un déficit de la transmission cholinergique dans la maladie d'Alzheimer a conduit au développement des premiers agents approuvés pour traiter les symptômes de démence, les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. En effet, l'hypothèse cholinergique propose un rôle central du déficit d'acétylcholine dans les symptômes cognitifs, fonctionnels et comportementaux observés dans la maladie d'Alzheimer. Il apparaît que les noyaux cholinergiques sont altérés ainsi que les indices biochimiques de la fonction cholinergique et que cette altération est corrélée avec la sévérité de la démence (Bartus et coll., 1982 ; Lleo et Greenberg, 2006). Les inhibiteurs d'acétylcholinestérase, qui tendent à préserver les niveaux endogènes d'acétylcholine, sont donc les médicaments les plus fréquemment utilisés dans la maladie d'Alzheimer. Les plus connus sont la tacrine, le donépézil, la rivastigmine et la galantamine. La tacrine est maintenant évitée car elle présente une forte toxicité hépatique associée. Les inhibiteurs d'acétylcholinestérase sont proposés pour améliorer les déficits cognitifs des patients atteints de maladie d'Alzheimer débutante à modérément sévère et stabiliser les fonctions comportementales de ces sujets. Même si le traitement par des inhibiteurs d'acétylcholinestérase semble retarder de 6 mois les déficits cognitifs (Takeda et coll., 2006), il apparaît clairement que ces inhibiteurs n'interrompent pas la cascade pathologique sous-tendant la dysfonction synaptique responsable de ces déficits.

Il existe un travail intéressant qui pourrait être considéré comme innovant, directement lié à l'approche décrite ci-dessus. En effet, Fu et ses collaborateurs (2005) ont inhibé, par une approche d'ARN anti-sens, l'expression du gène codant pour l'acétylcholinestérase. Ces auteurs ont montré que cette approche améliorait les performances cognitives chez l'animal transgénique. Ces résultats sont intéressants, mais sont pour l'instant restreints aux modèles animaux.

Antagonistes glutamatergiques

Une autre approche pour traiter la maladie d'Alzheimer est le blocage de la transmission glutamatergique. Le glutamate est le neurotransmetteur exciteur principal du système nerveux central. On pense que dans la maladie d'Alzheimer, celui-ci serait impliqué dans l'activation excessive des récepteurs au N-méthyl-D-aspartate (NMDA), avec pour conséquence une entrée et une accumulation intracellulaire de Ca^{2+} engendrant la mort neuronale. Cette observation suggérerait que des antagonistes des récepteurs NMDA, c'est-à-dire des molécules capables de bloquer l'effet du glutamate, pourraient être neuroprotecteurs. Ce postulat a conduit au développement et à l'utilisation en clinique de la mémantine. Cette molécule semble effectivement réduire la détérioration cognitive et ceci, particulièrement quand elle est utilisée en combinaison avec un inhibiteur d'acétylcholinestérase, le donépézil (Tariot et coll., 2004).

Stratégies thérapeutiques innovantes et perspectives

Les avancées de la recherche sur les mécanismes biologiques impliqués dans le développement de la maladie d'Alzheimer permettent d'entrevoir de nouvelles perspectives thérapeutiques.

Modulation directe de la production du peptide amyloïde et de sa dégradation

Compte tenu de l'impact délétère de l'accumulation de peptide β -amyloïde pathogène, il semble primordial d'envisager des stratégies visant à réduire la surproduction de ce peptide ou à stimuler son catabolisme.

Inhibiteurs de la β -sécrétase

La β -sécrétase est le nom générique pour l'activité protéolytique qui clive le précurseur du peptide β -amyloïde (β APP) et libère l'extrémité N-terminale du peptide $A\beta$. Cette enzyme hydrolyse aussi, et apparemment de façon préférentielle, la liaison peptidique localisée entre les résidus 10 et 11 du peptide $A\beta$. Cette enzyme (appelée BACE1, ASP2 ou mémapsine 2) a été clonée assez récemment (Hussain et coll., 1999 ; Sinha et coll., 1999 ; Vassar et coll., 1999 ; Yan et coll., 1999 ; Lin et coll., 2000). Un des problèmes posés par une stratégie visant une enzyme est que celle-ci est généralement peu spécifique et l'on peut donc s'interroger sur la nature des autres substrats et leur fonction. En d'autres termes, on ne peut négliger les effets secondaires potentiels qui résulteraient de l'inhibition de l'activité BACE1 si celle-ci est impliquée dans le catabolisme de protéines dont la fonction physiologique est vitale pour la cellule et donc pour l'organisme. Des études d'inactivation génique de BACE1 ont en ce sens été extrêmement encourageantes puisque

les animaux dépourvus de BACE1 sont viables, fertiles et ne présentent pas d'altérations phénotypiques majeures (Cai et coll., 2001 ; Luo et coll., 2001 ; Roberds et coll., 2001), bien que de récentes études indiquent que BACE1 hydrolyse d'autres substrats que la β APP (Kitazume et coll., 2005 ; Willem et coll., 2006). La mauvaise nouvelle est que la cristallisation de BACE1 associée à son substrat a révélé que le site de liaison du substrat à son enzyme était très étendu. Cela pourrait s'avérer être un obstacle majeur, rendant très difficile la conception d'inhibiteurs non peptidiques, biodisponibles et métaboliquement stables. Ainsi, si quelques études font état de progrès vers le développement d'inhibiteurs de β -sécrétase, il n'y a pas actuellement de molécules ayant atteint le stade de l'essai clinique.

Blocage de la β -sécrétase : vers une autre approche ?

Deux autres approches ciblant directement ou indirectement la β -sécrétase ont été proposées. La première consiste à réduire les taux de BACE1 par une approche ARN anti-sens. La délivrance par lentivirus de siRNA⁹ dirigés contre BACE1 réduit à la fois la production de peptide A β et les déficits cognitifs chez la souris transgénique (Singer et coll., 2005). Cette approche *in vivo* souligne le potentiel thérapeutique d'une telle approche. Une autre étude intéressante a consisté à bloquer l'accessibilité de BACE1 pour la β APP en développant des anticorps dirigés contre le site β de coupure de la protéine β APP (Arbel et coll., 2005). Cette approche a été validée par le fait que les auteurs ont montré que les anticorps s'associaient effectivement avec la β APP et que ceci se traduisait par une diminution de la production intracellulaire et extracellulaire de peptide A β . L'intérêt de cette approche encore expérimentale est de s'affranchir du fait que BACE1 puisse couper d'autres substrats, de garder fonctionnelle l'enzyme pour ses fonctions ne concernant pas la β APP, et de ne pas nécessiter la conception difficile et problématique d'inhibiteurs spécifiques de cette enzyme.

Inhibiteurs de la γ -sécrétase

L'activité γ -sécrétase est un terme générique qui englobe deux types d'activités enzymatiques, l'une dépendante (Herreman et coll., 2000 ; Zhang et coll., 2000) et l'autre indépendante des présénilines (PS) (Armogida et coll., 2001 ; Wilson et coll., 2003 ; Lai et coll., 2006). La γ -sécrétase dépendante des PS est en réalité un complexe multiprotéique de haut poids moléculaire comprenant au moins quatre protéines distinctes dont la biologie est extrêmement complexe (De Strooper, 2003) et dont on pense que le core enzymatique correspond aux PS elles-mêmes. La γ -sécrétase libérant l'extrémité C-terminale du peptide A β est une cible théorique primordiale si l'on veut bloquer la surproduction de ce peptide. Toutefois, la stratégie visant à bloquer ce complexe enzymatique s'est rapidement avérée problématique. En effet, l'inactiva-

tion génique des PS est létale *in utero* (De Strooper et coll., 1998). Ceci est dû à la spécificité large de ce complexe pour toute une série de substrats dont certains nécessitent une coupure par la γ -sécrétase pour exprimer une fonction vitale pour l'organisme. Ainsi, on pense que l'invalidation des PS est létale parce qu'elle abolit la coupure de Notch (De Strooper et coll., 1999), une protéine transmembranaire dont le fragment intracellulaire (NICD ou *Notch IntraCellular Domain*) libéré par la γ -sécrétase migre vers le noyau où il régule la transcription de gènes impliqués dans le contrôle de l'embryogénèse (Kopan et Goate, 2000). On connaît maintenant plus de trente substrats du complexe γ -sécrétase dépendant des PS. Les problèmes putatifs de toxicité d'inhibiteurs de la γ -sécrétase n'ont toutefois pas découragé tous les acteurs industriels et très récemment, Siemers et ses collaborateurs (2006) ont décrit un inhibiteur (LY450139) et étudié sa toxicité. Les auteurs ne rapportent pas de toxicité marquée mais il faut souligner que l'essai clinique était de très court terme. Enfin, aucune différence significative des taux de A β dans le liquide céphalo-rachidien n'a été rapportée (Siemers et coll., 2006).

Modulateurs de la γ -sécrétase

De nombreux médiateurs de l'inflammation (protéines du complément activées, cytokines, chémokines...) sont présents dans le cerveau de patients atteints de maladie d'Alzheimer et un rôle des processus inflammatoires chroniques dans la pathologie a été avancé (Pratico et Trojanovski, 2000). Il est actuellement difficile de distinguer entre un effet causal de l'inflammation, qui activerait les réponses immunitaires dans la maladie d'Alzheimer, et une simple conséquence de l'apparition des plaques et de la présence exacerbée du peptide A β et/ou des dégénérescences neurofibrillaires. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (NSAIDs ou *Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs*) réduisent généralement les réponses inflammatoires en inhibant la cyclooxygénase (COX). De manière intéressante, dans des cellules transfectées, mais aussi chez l'animal transgénique « Alzheimerisé », certains NSAIDs (ibuprofène, indométhacine, sulindac) peuvent, de manière indépendante de COX et sans affecter la voie Notch, réduire la production de A β 42 (Weggen et coll., 2001). Ceci s'accompagne de l'augmentation d'un autre produit du catabolisme de la β AAPP, le A β 38 sans affecter la production de A β 40. L'analyse plus exhaustive de l'effet des NSAIDs a compliqué les choses puisque, selon le type cellulaire examiné, des inhibiteurs de COX2 et certains bloqueurs de COX1 augmentent la production de A β 42 sans affecter A β 40 (Gasparini et coll., 2004). Aucun de ces inhibiteurs n'affecte le *processing* de Notch ni ne module les produits C-terminaux dérivés de l'attaque de la β AAPP par la γ -sécrétase, indiquant que cette enzyme n'était pas directement la cible des NSAIDs. Les NSAIDs dont l'effet sur le peptide A β est indépendant de COX interagiraient avec le complexe γ -sécrétase et moduleraient sa spécificité de coupure, à la fois *in vitro* et *in vivo*.

Plusieurs essais thérapeutiques contrôlés ont été réalisés ces dernières années pour examiner le potentiel d'anti-inflammatoires variés comme thérapeutique

dans la maladie d'Alzheimer. Ils n'ont pas donné lieu à des conclusions consensuelles. Une méta-analyse impliquant onze études prospectives et non prospectives a montré que la prise de NSAIDs était associée à un risque minoré de développer une maladie d'Alzheimer (Szekely et coll., 2004). En revanche, une étude à court terme a établi que le nimesulide n'avait pas d'effet bénéfique sur les déficits cognitifs (Aisen et coll., 2002). De même, des essais réalisés avec le naproxen (Aisen et coll., 2003) et le rofecoxib (inhibiteur sélectif de COX2) (Reines et coll., 2004) n'ont pas pu établir d'effet bénéfique vis-à-vis des symptômes de la maladie d'Alzheimer. Les résultats concernant les NSAIDs et, plus généralement les anti-inflammatoires, sont donc encore extrêmement discutés.

Activateurs de l'α-sécrétase

L'α-sécrétase est une protéase impliquée dans la maturation physiologique de la βAPP. Son action au milieu de la séquence Aβ de la βAPP conduit théoriquement à diminuer la production du peptide Aβ. C'est donc une enzyme qui doit être activée pour être bénéfique. La possibilité d'augmenter l'activité α-sécrétase cellulaire a été documentée quand différents groupes ont montré que la coupure α-sécrétase de la βAPP était constitutive mais aussi régulée, notamment par la voie de la protéine kinase C (PKC) (pour revue voir : Checler, 1995). Il a été établi que des activateurs de la PKC non seulement augmentaient la coupure α-sécrétase, mais que cela se répercutait par des taux diminués de peptide Aβ *in vivo* (Savage et coll., 1998). Il faut signaler que les phorbol esters utilisés pour stimuler l'α-sécrétase dans cette étude présentent la particularité d'induire une transformation néoplasique. Le challenge est donc de développer des agents stimulant l'α-sécrétase sans induire de tumeurs. Quelques résultats prometteurs ont été obtenus en ce sens (tableau 5.II). Ainsi, la bryostatine réduit l'accumulation de peptide Aβ dans le cerveau de souris transgéniques sans effets secondaires immédiats (Etcheberrigaray et coll., 2004).

Tableau 5.II : État d'avancement actuel concernant différentes stratégies thérapeutiques

Stade	Stratégie thérapeutique	Mécanisme ciblé
Abandonné	Immunothérapie active : AN-1792	Vaccin anti-Aβ intact
Préclinique	Inhibition/blocage de la β- et γ-sécrétase	Réduction de la production de Aβ
	Activation de l'α-sécrétase : Bryostatine 1	Activation de la protéine kinase C
	Inhibiteur de kinases	Neuroprotection/Réduire la dégénérescence neurofibrillaire
Phase I	Inhibition/blocage de la γ-sécrétase	Réduction de la production de Aβ
Phases I, II et III	Immunothérapie passive	Anticorps monoclonal contre Aβ
Phases I et II	Immunothérapie active	Vaccin anti-fragments Aβ couplés à un haptène

Stade	Stratégie thérapeutique	Mécanisme ciblé
	Inhibiteur de kinases	Neuroprotection/Réduire la dégénérescence neurofibrillaire
Phase II	Chélation des métaux lourds : Dérivé Clioquinol	Chélation du cuivre et du zinc pour réduire l'agrégation de A β
Phase III	Anti-polymérisation : Tramiprosate (Alzhemed™)	Mimétique de glycosaminoglycane Réduction de A β
	Modulateurs de γ -sécrétase : R-Flurbiprofène anti-inflammatoire non stéroïdien	Réduction de la production de A β 42
	Céstrognènes, anti-inflammatoire non stéroïdien, antioxydants, statines	Neuroprotection

Activateurs des enzymes de dégradation du peptide amyloïde

Les enzymes de dégradation du peptide amyloïde sont aussi des enzymes dont l'activation peut potentiellement conduire à diminuer les niveaux de peptides A β . Les enzymes majeures participant au catabolisme du peptide A β sont la néprilysine (NEP), l'enzyme de dégradation de l'insuline (IDE) et l'enzyme de conversion de l'endothéline (ECE) (pour revue voir : Carson et Turner, 2002). La surexpression de ces enzymes conduit à une réduction de peptide A β alors que leur inactivation potentialise généralement son expression. Diverses options peuvent être envisagées concernant l'activation pharmacologique de ces enzymes. Tout d'abord, la conceptualisation d'activateurs peptidiques ou non peptidiques qui peuvent potentialiser de manière allostérique ou non les enzymes ciblées. Un bon activateur devrait présenter plusieurs propriétés essentielles et notamment être :

- métaboliquement stable et biodisponible ;
- être sélectif de l'enzyme visée ;
- ne pas interférer avec des fonctions importantes liées à la dégradation de substrats autres que le peptide amyloïde.

À ce jour, peu de molécules présentant ces propriétés ont été développées. Song et ses collaborateurs (2003) ont montré que divers peptides pouvaient induire des changements conformationnels qui potentialisaient la capacité de l'IDE à hydrolyser le peptide A β , *in vitro*, sans affecter sa capacité à cliver l'insuline. Il faut souligner ici que ces activateurs d'origine peptidique sont donc a priori instables, mais cette étude montre le bien-fondé et la faisabilité d'une stratégie visant à potentialiser les enzymes de dégradation du peptide A β . Une autre approche dérive de l'observation que la transcription de certaines enzymes peut être modulée *in vivo*. Ainsi, Pardossi-Piquard et ses collaborateurs ont pu établir que les AICD (β APP *IntraCellular Domain*), ces fragments dérivés de la coupure γ - et ϵ -sécrétase de la β APP, pouvaient potentialiser la transcription des ARN messagers de la NEP (Pardossi-Piquard et coll., 2005 et 2006). La possibilité d'influer sur la transcription des enzymes de dégradation du peptide A β est nouvelle et potentiellement intéressante, même si elle

se heurte encore à des problèmes théoriques concernant le spectre large des AICD (qui contrôlent notamment le facteur de transcription p53 ; Alves da Costa et coll., 2006) et le fait que la NEP a un spectre pharmacologique large et de nombreux substrats dont les opiacés endogènes (Checler, 1993).

Modulation indirecte de la production du peptide amyloïde

En dehors des enzymes impliquées dans la production et le catabolisme du peptide A β , des approches indirectes peuvent également présenter un intérêt dans les perspectives thérapeutiques.

Agents dépléteurs du cholestérol

L'apolipoprotéine E4 (ApoE4) est un facteur de risque majeur de développement de formes sporadiques tardives de maladie d'Alzheimer (Strittmatter et Roses, 1995 ; Wolozin, 2004). Cette isoforme de l'ApoE est souvent associée à une augmentation des taux sériques de cholestérol et semble impliquée dans la formation de fibrilles amyloïdes (Jarvik et coll., 1995 ; Bales et coll., 1997). Les mécanismes par lesquels le cholestérol augmente les niveaux de peptides A β sont encore mal compris mais plusieurs études indiquent qu'il régulerait négativement l'activité α -sécrétase (Bodowitz et Klein, 1996 ; Racchi et coll., 1997) et, à l'inverse, potentialiserait l'activité des β - et γ -sécrétases (Kalvodova et coll., 2005 ; Sidera et coll., 2005). Ainsi, les inhibiteurs de la synthèse de cholestérol réduisent la voie β -sécrétase *in vitro*. De même, les statines, ces composés qui réduisent le cholestérol dans la membrane, apparemment réduisent aussi la charge en peptide A β *in vivo* (Refolo et coll., 2000). L'intérêt de l'utilisation des statines en thérapeutique a été initialement suggéré par une étude épidémiologique rétrospective montrant que l'utilisation chronique de statines était associée à un risque significativement réduit de développer une démence (Wolozin et coll., 2000). En revanche, le rôle potentiel bénéfique des statines a été récemment remis en question dans une étude examinant l'effet de la pravastatine chez des personnes âgées et qui montrait qu'après trois ans, aucun effet significatif sur les fonctions cognitives ne pouvait être établi (Shepherd et coll., 2002). Les résultats concernant les statines sont donc discutés. Il faut noter que les doses de statines utilisées, notamment dans les approches *in vitro*, sont généralement cent fois supérieures à celles utilisées chez l'homme. De plus, les statines, qui ne passent pas la barrière hématoencéphalique, exercent vraisemblablement leur effet supposé de manière indirecte. Les effets observés peuvent être dus à des effets complexes, compliqués par des altérations de la paroi vasculaire et par une modification de la réponse inflammatoire.

Substituts hormonaux

108 Les œstrogènes sont utilisés comme traitement suppléatif chez les femmes post-ménopausées, notamment afin de prévenir l'ostéoporose. De manière

intéressante, les œstrogènes sont des hormones pléiotropes qui peuvent aussi être impliquées dans les processus de neuroprotection puisqu'ils protègent contre les processus de mort cellulaire, présentent des propriétés anti-inflammatoires et exercent des effets antioxydants (Asthana et coll., 1997). Ces observations ont conduit des auteurs à s'interroger sur le potentiel protecteur des œstrogènes contre les déficits cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer. Une étude a notamment montré sur un échantillon restreint de 20 femmes post-ménopausées ayant un diagnostic de maladie d'Alzheimer, que l'application de 17β -œstradiol pendant huit semaines augmentait significativement l'attention et la mémoire (Asthana et coll., 2001). Dans une autre étude réalisée chez des femmes post-ménopausées dont un groupe avait reçu un traitement hormonal substitutif, les taux de peptides $A\beta$ ont été mesurés après traitement par le 17β -œstradiol et il a été montré que seules les femmes non traitées répondaient au traitement par une baisse des taux de peptide $A\beta$, supportant l'idée que l'effet de l'œstradiol sur la production de peptide $A\beta$ ne se produit que sur les femmes post-ménopausées naïves de tout traitement suppléatif (Baker et coll., 2003). La possibilité que les œstrogènes modulent directement la maturation physiopathologique de la β APP a été étayée par une étude montrant que ces hormones réduisaient la production de peptide $A\beta$ dans des cultures primaires de neurones (Xu et coll., 1998). Il apparaît cependant que de nombreuses études exhaustives ne permettent pas de conclure à un effet significatif des œstrogènes sur la formation du peptide $A\beta$. Ainsi, dans une étude comportant près de 8 000 patients atteints de diverses affections incluant des démences, les auteurs n'ont pas pu établir que les taux endogènes élevés d'œstrogènes étaient corrélés à une baisse des risques de développer une démence (Geerlings et coll., 2003). Parmi d'autres, l'étude du groupe de Thal a montré qu'un groupe de femmes ménopausées et hystérectomisées traitées à la prémarine voyait ses taux plasmatiques d'œstradiol augmentés mais sans que ceci n'influe sur une amélioration du score cognitif (Thal et coll., 2003a). La tendance actuelle est plutôt réservée vis-à-vis du traitement suppléatif aux œstrogènes mais d'autres études devraient apporter leur lot d'éléments permettant d'apprécier le potentiel de cette thérapeutique.

Modulation de la polymérisation du peptide amyloïde

Il existe plusieurs stratégies visant à bloquer la polymérisation du peptide $A\beta$ et donc son agrégation. Deux drogues candidates, le tramiprosate (Alzhemed™) et le clioquinol, sont actuellement en cours d'essai clinique (tableau 5.II).

Chélateurs de métaux

Les processus d'agrégation sont amplifiés par les ions métalliques lourds et, en conséquence, les chélateurs de ces ions particuliers ont la propriété de

retarder la polymérisation. Le clioquinol est un agent utilisé depuis longtemps pour traiter les affections parasitaires du tractus gastrointestinal. Il a été démontré que le clioquinol était capable de réduire la fibrillation du peptide A β *in vitro* (Raman et coll., 2005) et de baisser les niveaux de ce peptide chez la souris transgénique (Cherny et coll., 2001). Une étude encore restreinte mais intéressante examinant l'effet du clioquinol sur des patients atteints de maladie d'Alzheimer débutante à très modérée a établi une corrélation entre le traitement et des améliorations cognitives très rapidement après le début du traitement. De plus, cette amélioration était accompagnée par une modification des taux plasmatiques de A β (Ritchie et coll., 2003). Cette étude semble indiquer que certains des symptômes observés dans la maladie d'Alzheimer sont effectivement liés à la présence de peptide A β . Ces résultats prometteurs sont à modérer puisque le clioquinol s'est avéré toxique et a été retiré du marché il y a quelques années. Cependant, une étude récente semble indiquer que le clioquinol, sans présenter de toxicité, stabiliserait plus qu'il n'améliorerait l'impression globale clinique (Ibach et coll., 2005). Il faut noter que ces derniers travaux concernent deux familles traitées à long terme par le clioquinol. La piste reste donc prometteuse avec le potentiel de développement de chélateurs de métaux dépourvus d'effets secondaires toxiques.

Anti-agrégants

Une autre piste consiste à inhiber la polymérisation du peptide A β en interférant avec les éléments moléculaires environnementaux propices et favorisant cette agrégation. Ainsi, il a été montré que les glycosaminoglycannes (GAG) favorisaient l'agrégation du peptide A β (Gervais et coll., 2006). En effet, le peptide A β utilise un domaine de liaison aux GAG localisé dans sa séquence pour s'en servir de « trame » moléculaire pour son agrégation. Il faut donc imaginer des agents mimant ce domaine de liaison et faisant compétition entre le peptide A β et les GAG pour parvenir à bloquer l'agrégation GAG-dépendante du peptide A β . AlzhemedTM (ou tramiprosate) a été développé dans cette optique et des études *in vitro* ont montré que le but initial était atteint puisque l'Alzhemed bloque la fibrillation du peptide A β , *in vitro* (Gervais et coll., 2001) et dans le cerveau de souris transgéniques (Gervais, 2004). AlzhemedTM est bien toléré, n'est pas toxique et présente une bonne biodisponibilité dans le cerveau. Les niveaux plasmatiques de A β 42 baissent de manière dose-dépendante au cours d'un traitement de trois mois et l'état cognitif est stabilisé quand on s'adresse à des patients ayant une forme modérée de maladie d'Alzheimer. AlzhemedTM est de toutes les stratégies « anti-amyloïdes » actuelles, la molécule candidate la plus avancée (tableau 5.II). Le médicament est actuellement en phase III et une étude réalisée aux États-Unis et au Canada prévoit un traitement pendant 18 mois avec une ou deux doses. D'après des informations récentes, 338 patients seraient encore dans l'essai après 12 mois.

Les quelques autres possibilités d'empêcher l'agrégation du peptide A β dérivent d'observations anciennes et quelquefois empiriques comme l'utilisation du rouge Congo et de certains de ses dérivés, cette molécule bien connue des histologistes qui se lie *in situ* aux dépôts amyloïdes (Klunk et coll., 1998). D'autres molécules dont le mécanisme d'action est encore inconnu préviennent l'agrégation du peptide A β comme l'iodo-déoxydoxorubicine. Enfin, plus rationnellement, il a été synthétisé des analogues peptidiques du peptide A β . Ceux-ci se heurtent aux problèmes de stabilité catabolique inhérents à ces peptides qui sont la cible de protéases nombreuses à spectre pharmacologique et spécificité larges.

Antioxydants

L'intérêt pour les événements liés au stress oxydant est relativement récent. Il y a de nombreuses évidences que des processus de stress oxydant interviennent avant le début des symptômes de la maladie d'Alzheimer (Perry et coll., 2003 ; Ghanbari et coll., 2004 ; Migliore et coll., 2005). Il existe plusieurs types d'antioxydants, lesquels sont répertoriés ci-dessous.

Antioxydants métaboliques

Les antioxydants métaboliques sont généralement des co-facteurs d'enzymes impliqués dans la production cellulaire d'énergie. L'ubiquinol, un dérivé de l'ubiquinone qui est synthétisée normalement dans la mitochondrie, est un puissant antioxydant qui a fait l'objet de plusieurs études cliniques. Des améliorations significatives, dépendantes de la dose employée, ont été observées dans une étude multicentrique impliquant 450 patients. Ces améliorations notées au niveau de tests neuropsychiatriques ont persisté après deux années de traitement (Gutzmann et Hadler, 1998). Dans une autre étude, 300 patients présentant une maladie d'Alzheimer avec démence légère à modérée ont été traités pendant six mois à l'idebenone (30 mg ou 90 mg trois fois par jour) et une amélioration significative de l'ADAS (*Alzheimer's disease assessment scale*) et de l'ADAS-cog (*ADAS-cognitive subscale*) a été notée (Weyer et coll., 1997). À l'inverse, Thal et ses collaborateurs ont réalisé une étude portant sur des patients de 50 ans et plus, présentant un MMSE (*Mini Mental State Examination*) (annexe 2) entre 12 et 25. Les sujets ont été traités deux fois par jour avec des doses variées d'idebenone pendant un an. Les auteurs n'ont pas noté d'amélioration significative du déclin cognitif (Thal et coll., 2003b).

Deux autres antioxydants métaboliques ont fait l'objet d'essais cliniques : l'acide α -lipoïque, un coenzyme des pyruvate et α -cétoglutarate déshydrogénases mitochondriales, et l'acétyl L-carnitine, un transporteur de groupes acétyls à travers la membrane interne mitochondriale. Ces deux études n'ont pas permis d'établir de manière définitive un effet bénéfique de ces agents. Ainsi, l'acide α -lipoïque stimule la pyruvate déshydrogénase dans la démence vasculaire.

laire mais apparemment pas dans la maladie d'Alzheimer (Frolich et coll., 2004). D'autre part, l'acétyl L-carnitine apporte un bénéfice ténu dans l'impression clinique globale de patients déments sans que cela soit confirmé lors d'évaluations objectives variées (Hudson et Tabet, 2003).

Antioxydants directs

Les antioxydants directs ont la capacité d'interagir directement avec les réactifs oxygénés. Ils peuvent physiquement s'associer aux radicaux libres indépendamment des enzymes nécessaires à leur production. Cette classe d'antioxydants inclut notamment les vitamines, les flavonoïdes, les terpénoïdes et même le 17β -œstradiol (ce qui pourrait expliquer certains effets protecteurs des œstrogènes). La vitamine E et la selegiline (un inhibiteur de monoamine oxydase) ont été rapportées comme bénéfiques chez des patients atteints de maladie d'Alzheimer modérément sévère en retardant notamment la progression vers le stade sévère, sans effet synergique des deux agents pharmacologiques (Sano et coll., 1997). Deux autres études ont confirmé l'effet bénéfique d'un régime supplémenté en vitamines C et E sur la détérioration cognitive (Engelhart et coll., 2002 ; Morris et coll., 2002). Plus récemment, une étude prospective a établi que l'utilisation de vitamines E et C était associée à une réduction de l'incidence et de la prévalence de maladie d'Alzheimer (Zandi et coll., 2004). Comme souvent malheureusement, il existe des études menant à des résultats contradictoires. Ainsi, une étude a montré que l'ingestion de vitamine E était non seulement sans bénéfice pour les patients, mais au contraire, le groupe traité à la vitamine présentait après 12 mois, une détérioration cognitive plus importante que le groupe « témoin » traité au donépézil (Petersen et coll., 2005).

Antioxydants indirects

Les antioxydants indirects n'ont pas d'effet antioxydant *per se* mais concourent à réduire ou empêcher les radicaux libres. Parmi ces agents, on retrouve les chélateurs de métaux lourds et notamment, le clioquinol décrit précédemment comme un anti-agrégant. Le seul essai clinique concernant le clioquinol a été décrit ci-dessus.

Neuroprotection

Il existe de nombreux travaux indiquant que la maladie d'Alzheimer s'accompagne d'une perte neuronale et d'une altération de l'architecture synaptique, et il est notoire que les facteurs de croissance protègent de la mort neuronale et de la toxicité amyloïde. Le NGF (*Nerve Growth Factor*) cible plus particulièrement la transmission cholinergique (Levi-Montalcini, 1987). Ainsi le NGF améliore l'atrophie cholinergique et les troubles comportementaux associés chez le rat âgé (Fischer et coll., 1987), et réduit la dégénérescence cholinergique induite par lésion chez le macaque (Tuszynski

et coll., 1990). Le NGF se trouve donc, théoriquement au moins, être un bon candidat pour une approche de thérapie génique. La difficulté est de délivrer sélectivement assez de NGF pour protéger les neurones des zones cérébrales lésées sans induire les effets secondaires particulièrement importants observés dans le cas d'une application périphérique (le NGF ne passe pas la barrière hématoencéphalique), et notamment la douleur et la perte de poids. La première étude d'application *ex vivo* de NGF chez huit malades présentant une maladie d'Alzheimer à un stade modéré a établi une absence de toxicité à 22 mois, ainsi qu'une amélioration dans l'évolution du déclin cognitif (Tuszynski et coll., 2005). Ces premiers résultats concernant une approche de thérapie génique sont encourageants mais attendent confirmation sur des cohortes plus importantes. Il est toutefois peu probable qu'une stratégie visant uniquement la transmission cholinergique soit une manière de « guérir » la maladie d'Alzheimer mais cette approche, de façon concomitante aux approches anti-amyloïdiques, pourrait s'avérer complémentaire, particulièrement aux stades précoces ou modérés de la maladie d'Alzheimer.

Autres approches

Les autres approches concernent essentiellement la capacité à interférer avec les dégénérescences neurofibrillaires (activateurs de phosphatases, inhibiteurs de kinases) ou à prévenir la surproduction de peptide amyloïde et les troubles associés par des approches de vaccination.

Immunothérapie

Comme cela a été évoqué par ailleurs, il existe certaines formes familiales de la maladie d'Alzheimer qui ont permis l'identification de mutations sur les gènes du précurseur du peptide A β (protéine APP) et des présénilines (Chartier-Harlin et coll., 2004 ; Hardy, 2006). Le développement de souris transgéniques en utilisant différentes constructions a permis de disposer de modèles expérimentaux reflétant en partie la neuropathologie de la maladie d'Alzheimer comme les dépôts amyloïdes et la mort neuronale. Il est donc possible de tester un certain nombre de stratégies thérapeutiques comme l'immunothérapie sur ces modèles (Bloom et coll., 2005 ; Games et coll., 2006) (tableau 5.II).

Immunothérapie anti-A β active

En 1999, Dale Schenk et ses collaborateurs ont injecté à des souris transgéniques PDAPP (avec la mutation APP V717F) le peptide A β 1-42 agrégé afin d'induire une réponse immunitaire (Schenk et coll., 1999). Il s'agit d'une immunothérapie active. Chez les animaux jeunes ne présentant pas encore de dépôts amyloïdes, l'immunisation a fortement diminué, voire pré-

venu l'apparition de dépôts. De même, chez des animaux âgés présentant des dépôts amyloïdes, l'immunisation a fortement réduit la charge amyloïde. L'injection du peptide A β 1-42 agrégé induit donc une réponse à la fois préventive et curative (Schenk et coll., 2004). Ces résultats ont pu être reproduits dans de nombreux laboratoires même si l'effet observé n'était pas toujours aussi flagrant. Il est clair qu'en fonction du type de peptide utilisé, de son mode d'administration, de la pathologie amyloïde et du modèle utilisé, l'efficacité du traitement peut varier (Holtzman et coll., 2002 ; Gelinas et coll., 2004 ; Schenk et coll., 2004 ; Schenk, 2006).

Immunothérapie anti-A β passive

Il a été aussi montré que l'administration d'anticorps monoclonaux dirigés contre le peptide A β , appelée immunothérapie passive, peut également mimer l'effet de l'immunothérapie active. Ainsi, l'injection périphérique (intra-péritonéale) d'anticorps anti-A β chez les mêmes animaux transgéniques que ceux utilisés précédemment a le même effet de clairance des dépôts amyloïdes (Bard et coll., 2000 ; DeMattos et coll., 2001). Les anticorps qui sont dirigés vers les régions amino-terminale et médiane du peptide sont plus efficaces que ceux dirigés vers le domaine carboxy-terminal (Bard et coll., 2000 ; DeMattos et coll., 2001 ; Bard et coll., 2003). Les raisons de ces observations restent à établir. L'effet de l'immunothérapie passive n'est pas seulement lié à l'épitope du peptide A β reconnu mais aussi à l'isotype de l'immunoglobuline utilisée (Bard et coll., 2003 ; Bussiere et coll., 2004). Enfin, comme pour l'immunothérapie active, l'efficacité est meilleure chez les animaux jeunes que chez les animaux âgés (Bard et coll., 2000 ; Das et coll., 2001 ; Wilcock et coll., 2004b ; Hartman et coll., 2005).

Des anticorps anti-A β ont également été directement injectés en intracrânien. Les anticorps sont injectés soit dans le parenchyme cérébral, soit dans l'espace cérébro-ventriculaire. De cette façon, l'effet obtenu est plus important puisque les dépôts amyloïdes disparaissent quelques jours après l'injection (Bacscai et coll., 2001 ; Bacscai et coll., 2002 ; Wilcock et coll., 2003 ; Oddo et coll., 2004 ; Wilcock et coll., 2004a). L'efficacité de cette clairance des dépôts amyloïdes est liée à la spécificité de l'anticorps utilisé et peut persister plusieurs semaines dans la région injectée (Lombardo et coll., 2003).

Mécanismes de l'immunothérapie

Les mécanismes sous-jacents à cette clairance des dépôts amyloïdes dans le cerveau des animaux transgéniques suite à l'immunothérapie sont encore mal compris. Les expériences initiales de l'immunothérapie passive périphérique ont montré que certains anticorps étaient retrouvés liés aux dépôts amyloïdes. Ces observations suggéraient qu'un faible pourcentage d'anticorps passe la barrière hémato-encéphalique. Certains anticorps dirigés contre la partie amino-terminale du peptide A β peuvent faciliter la phagocytose des dépôts amyloïdes par la microglie par un mécanisme médié par des récepteurs au

fragment Fc (Bard et coll., 2000 et 2003). D'autres expériences d'immunothérapie passive centrale ont montré un mécanisme de clairance Fc-indépendant en utilisant soit des fragments F(ab) dirigés contre la partie aminoterminal du peptide A β (Bacsikai et coll., 2002), soit des animaux où les récepteurs Fc sont invalidés (Das et coll., 2003). Au total, la clairance des dépôts amyloïdes, après immunothérapie active ou passive, passe vraisemblablement par deux mécanismes dépendants ou non de la microglie.

Certains anticorps dirigés contre le tétrapeptide amino-terminal EFRH du peptide A β avaient montré leur capacité à désagréger les fibrilles amyloïdes (Frenkel et coll., 1998, 1999 et 2004). Ils ont montré leur efficacité en immunothérapie passive suggérant qu'ils permettent la clairance des dépôts par des mécanismes similaires de « catalyse » des fibrilles A β (Frenkel et coll., 2000a et b ; Solomon, 2001 et 2002 ; Solomon et Frenkel, 2002 ; Solomon, 2005).

Par ailleurs, DeMattos et ses collaborateurs ont utilisé un anticorps contre la partie médiane du peptide A β dont l'efficacité sur la clairance des dépôts est excellente (DeMattos et coll., 2001). Pourtant, cet anticorps ne passe pas la barrière hémato-encéphalique et ne se lie pas aux dépôts amyloïdes. Après injection périphérique de cet anticorps, il a été observé une nette augmentation de la concentration plasmatique du peptide A β corrélée à la densité de dépôts amyloïdes présents dans le cerveau des animaux transgéniques utilisés. Ceci a conduit à l'hypothèse de « l'effet siphon périphérique » (*peripheral sink hypothesis*) où les anticorps anti-A β périphériques trappent le peptide A β circulant, déplaçant ainsi l'équilibre existant entre les formes centrales et circulante de A β vers le compartiment périphérique (DeMattos et coll., 2001 ; DeMattos et coll., 2002).

Enfin, une immunisation transcutanée contre le peptide A β permet de générer une réponse immunitaire avec production d'anticorps anti-A β conduisant à la réduction des dépôts amyloïdes cérébraux sans réaction inflammatoire (infiltration des lymphocytes T) (Nikolic et coll., 2007).

Quel que soit le mécanisme d'action, l'immunothérapie permet de diminuer la charge amyloïde dans le cerveau des souris transgéniques. Les fonctions cognitives et la fonction neuronale sont-elles pour autant améliorées ?

Conséquences fonctionnelles de l'immunothérapie chez l'animal

Après immunisation active, la disparition des dépôts amyloïdes chez les souris transgéniques APP a conduit à une amélioration de leurs performances dans des tâches de mémoire spatiale (Janus et coll., 2000 ; Morgan et coll., 2000). De même, l'immunothérapie passive chez des animaux transgéniques âgés, bien qu'ayant un faible effet sur la diminution de la charge amyloïde, permet une nette amélioration des fonctions cognitives (Dodart et coll., 2002 ; Kotilinek et coll., 2002). D'autres paramètres biologiques liés à la cognition sont également améliorés par l'immunothérapie, comme la potentialisation à long terme (Hartman et coll., 2005, Klyubin

et coll., 2005) et l'intégrité synaptique (Buttini et coll., 2005) ou encore la diminution de neurites dystrophiques (Lombardo et coll., 2003; Brendza et coll., 2005) et la pathologie tau (Oddo et coll., 2004).

Essais cliniques chez l'homme

Les différentes études d'immunothérapie active et passive réalisées chez les souris transgéniques montrent une baisse de la pathologie amyloïde et une amélioration des fonctions cognitives. Ces approches permettent d'imaginer des stratégies thérapeutiques chez l'homme. La première tentative a été réalisée par *Elan Pharmaceuticals* et *Wyeth* en 2001 par une approche d'immunisation active avec un peptide A β 42 agrégé (AN1792) (Schenk, 2002). Malgré une bonne tolérance dans les études préliminaires de phase I, l'essai clinique a été arrêté en phase 2 après que 6 % des patients aient développé une méningo-encéphalite (Orgogozo et coll., 2003). La majorité des patients n'a reçu qu'une à deux doses sur les quatre initialement prévues. Chez les patients vaccinés en ce début de phase II, un grand nombre a présenté des titres élevés d'anti-A β sérique (Hock et coll., 2002 ; Hock et coll., 2003 ; Bayer et coll., 2005). Les premiers résultats sur le statut cognitif d'un faible échantillonnage de patients étaient très encourageants (Hock et coll., 2003). Les analyses sur un plus grand nombre de patients montrent un effet chez les individus présentant des titres élevés d'anti-A β sérique (Gilman et coll., 2005 ; Schenk et coll., 2005). Actuellement, 4, 5 ans après avoir reçu leur injection, des patients montrent encore une faible réponse immunitaire. Leur statut cognitif est bien meilleur que chez les témoins. Le rôle de l'adjuvant QS-21 dans les effets secondaires de l'essai AN1792 n'a pas réellement été étudié (Orgogozo et coll., 2003 ; Bayer et coll., 2005 ; Fox et coll., 2005 ; Gilman et coll., 2005). L'efficacité de l'immunothérapie s'est vue plus ou moins confortée par les quelques autopsies réalisées sur des patients ayant fait partie de l'essai clinique AN1792 (Nicoll et coll., 2003 ; Ferrer et coll., 2004 ; Masliah et coll., 2005a ; Nicoll et coll., 2006 ; Bombois et coll., 2007). Les examens post-mortem ont permis de mieux comprendre les mécanismes de clairance des dépôts amyloïdes et les effets secondaires indésirables (encéphalites, microhémorragies...) (Nicoll et coll., 2003 ; Ferrer et coll., 2004). Une infiltration des lymphocytes T a été observée et explique vraisemblablement les encéphalites (Orgogozo et coll., 2003 ; Ferrer et coll., 2004). Ces encéphalites pourraient être amplifiées par une inflammation locale associée à l'angiopathie amyloïde congophile (Gandy et Walker, 2004). Ceci est conforté par des expériences sur des animaux transgéniques où une immunothérapie passive avec des anticorps anti-A β agrégé montre une augmentation par un facteur deux de microhémorragies (Racke et coll., 2005). Ces résultats restent cependant controversés puisqu'ils ne sont pas retrouvés dans d'autres modèles (Burbach et coll., 2007).

116 Une approche originale d'immunothérapie passive a été également développée à partir d'une préparation d'immunoglobulines G humaines pour

injection intraveineuse (IVIgG). En 2002, Dodel et ses collaborateurs ont montré la présence d'anticorps anti-A β dans une préparation IVIgG. L'injection de cette préparation avait un effet comparable à celui décrit pour l'hypothèse du siphon périphérique avec une augmentation de la concentration plasmatique du peptide A β (Dodel et coll., 2002). Cependant, dans des expériences *in vitro*, Istrin et collaborateurs ont montré un effet direct de cette préparation sur la migration microgliale et la phagocytose des peptides A β (Istrin et coll., 2006). Un essai clinique sur cinq patients a été réalisé en utilisant cette préparation IVIgG (Dodel et coll., 2004). Les résultats étaient encourageants mais ne permettent pas de tirer des conclusions quant à l'efficacité et les mécanismes impliqués (Fillit, 2004).

Perspectives

Les essais pré-cliniques chez l'animal recherchent une immunothérapie avec moins d'effets secondaires et une approche plus ciblée vers des formes pathologiques du peptide A β . Plus récemment, dans les modèles transgéniques, une diminution des microhémorragies a pu être observée grâce à l'utilisation d'anticorps déglycosylés (Wilcock et coll., 2006) ou d'autres adjuvants (Asuni et coll., 2006). Le ciblage de formes pathologiques du peptide A β est aussi une autre voie prometteuse : il existe des formes agrégées, conformationnelles ou tronquées du peptide A β qui sont autant de cibles thérapeutiques (Sergeant et coll., 2003 ; Glabe et Kayed, 2006 ; Head et coll., 2006 ; Lesne et coll., 2006). La plupart de ces cibles sont en essais pré-cliniques, mais d'autres sont déjà beaucoup plus avancées.

Actuellement, de nombreux essais cliniques ont repris chez l'homme avec des immunothérapies actives et passives. Il est impossible de les citer tous, mais en voici quelques exemples.

Chez les pionniers Elan/Wyeth, une immunothérapie active avec l'ACC-001 permet la production d'anticorps capables d'agir directement au niveau cérébral. Une stratégie d'immunothérapie passive est également prometteuse avec l'AAB-002 dont l'entrée en phase III a été annoncée en juin 2007. L'AAB-002 (bapineuzumab) est un anticorps humanisé anti-A β capable d'éliminer les dépôts amyloïdes (3D6, Bacskaï et coll., 2002)¹⁰.

Chez Roche, l'immunothérapie passive est en cours avec le R1450, un anti-A β capable de favoriser la clairance des dépôts amyloïdes, en phase I¹¹.

Chez Novartis/Cytos Biotechnology, une stratégie d'immunisation active avec l'Immunodrug™ CAD106, une structure mixte qui est composée du porteur appelé Immunodrug™ Qb et un fragment du peptide A β est en phase I¹².

10. http://www.elan.com/research_development/Alzheimers/

11. <http://www.roche-trials.com/patient/studies/catp10064.html>

12. http://www.cytos.com/default3.asp?text=products_trials.asp&bot=bot_products.htm

Chez Eli Lilly, l'anticorps monoclonal m266, à l'origine de l'hypothèse du syphon périphérique, a été humanisé. Il est actuellement en phase I sous la dénomination LY2062430¹³.

Chez Pfizer/Rinat, une immunothérapie passive a été choisie avec le RN1219 qui cible un épitope situé dans un domaine plus carboxy-terminal du peptide A β . Il y a encore peu d'information sur l'avancement de l'essai clinique.

En résumé, l'immunothérapie est sans doute l'innovation thérapeutique qui porte le plus d'espoir dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Le concept d'immunothérapie pour soigner une affection du système nerveux central trouve donc ses premiers arguments grâce aux résultats obtenus dans la maladie d'Alzheimer et voit déjà des extensions potentielles aux maladies à prions (Solomon, 2002 ; Wisniewski et coll., 2002 ; Sadowski et Wisniewski, 2004) ou les alpha-synucléinopathies (Masliah et coll., 2005b).

Mécanismes d'agrégation de Tau et stratégies thérapeutiques

Curieusement, les mécanismes conduisant à l'agrégation des protéines Tau restent très hypothétiques. Plusieurs mécanismes peuvent conduire à cette agrégation dans la maladie d'Alzheimer. Il y a tout d'abord la phosphorylation (Sergeant et coll., 2005) et un changement dans l'équilibre des isoformes de Tau (Glatz et coll., 2006). Une stratégie pourrait cibler la régulation des facteurs d'épissage. Cependant, quel que soit le mécanisme impliqué dans l'agrégation de Tau, le point commun est la phosphorylation anormale des protéines Tau agrégées. L'absence de modèles animaux a longtemps handicapé le développement de stratégies thérapeutiques pour la DNF. Les progrès récents dans ce domaine vont permettre des avancées plus rapides (Delacourte et Buée, 2005). Il existe maintenant des modèles animaux où la pathologie affecte principalement l'hippocampe et les fonctions cognitives (Schindowski et coll., 2006) et non plus les fonctions motrices comme c'était le cas dans les premiers modèles décrits (Lewis et coll., 2000) (tableau 5.III).

L'ensemble de ces modèles permet de mieux comprendre les mécanismes d'agrégation des protéines Tau et d'envisager une approche thérapeutique (Churcher, 2006).

La phosphorylation exacerbée des protéines Tau pourrait donc être une nécessité à l'agrégation de Tau. Elle pourrait être liée à une perturbation du métabolisme du glucose, une altération dans le fonctionnement du protéasome, une anomalie dans le mécanisme d'apoptose neuronale et enfin à une

perte de liaison aux microtubules suivie d'un gain d'affinité pour d'autres polyanions qui catalyseraient son agrégation. Si la phosphorylation est considérée comme un événement majeur de l'agrégation des protéines Tau, d'autres modifications post-traductionnelles ou conformationnelles sont également suspectées. La compréhension des mécanismes d'agrégation est un objectif majeur pour développer des stratégies thérapeutiques innovantes : inhibiteurs de kinases, activateurs de phosphatases ou autres régulateurs de la phosphorylation (cis/trans isomérases, N-acétyl glucosamine transférases...), agents anti-agrégatifs... (Buée et Delacourte, 2006). Dans cette liste non exhaustive, il est possible aujourd'hui d'évoquer quelques pistes.

Tableau 5.III : Modèles Tau transgéniques

Références	Promoteur	Mutation	Début de la pathologie Tau	pTau dans la moelle épinière	Troubles moteurs
Lewis et coll., 2000	PrP	P301L	5 mois	5 mois	6,5 mois
Santacruz et coll., 2005	CamK II (inductible)	P301L	2,5 mois	Pas à 2,5 mois	9,5 mois
Gotz et coll., 2001	Thy1.2	P301L	3 mois	3 mois	oui
Allen et coll., 2002	Thy1.2	P301S	5 mois	5 mois	oui
Schindowski et coll., 2006	Thy1.2	G272V/ P301S	3 mois	Très faible à 3 et 6 mois	Non jusqu'à 18 mois

Les conséquences de la phosphorylation anormale des protéines Tau sont une perturbation de la stabilité des microtubules et une perte de transport axonal (Mandelkow et coll., 2003). Des dérivés du taxol, permettant de stabiliser les microtubules, ont donc été proposés dans le traitement des tauopathies (Zhang et coll., 2005). Leur utilisation en clinique est néanmoins fort peu probable puisque ces drogues ont de nombreux effets indésirables. De plus, certaines tauopathies présentent une surexpression de protéines Tau 4R favorisant la stabilité des microtubules. Il est donc difficile de comprendre comment le taxol ne va pas avoir les mêmes effets délétères.

La phosphorylation anormale des protéines Tau favoriserait l'agrégation en filaments. L'utilisation d'inhibiteurs de kinases représente donc une voie prometteuse avec l'utilisation du lithium ou d'inhibiteurs de GSK3 β (Protéine kinase de Tau 1 ou TPKI) pour ralentir la progression de la DNF (Bhat et coll., 2004 ; Noble et coll., 2005). Des résultats similaires ont été obtenus pour des inhibiteurs de MAPK (Le Corre et coll., 2006) ou cdk5 (Tsai et coll., 2004). De même, la compréhension de la régulation exercée par les phosphatases et les prolyl isomérases est cruciale pour influencer les mécanismes de déphosphorylation de Tau (Hamdane et coll., 2002 et 2006 ; Lu et coll., 2003 ; Iqbal et Grundke-Iqbal, 2005 ; Smet et coll., 2004 et 2005a et b).

Enfin, les interactions protéines Tau-protéines Tau peuvent aider au développement d'agents intercalants inhibant leur agrégation (Pickhardt et coll., 2005a et b). Depuis peu, il est possible de suivre l'agrégation des protéines directement par spectroscopie RMN et d'identifier les séquences peptidiques impliquées (Lippens et coll., 2006). Ces travaux permettent de proposer des agents intercalants qui empêchent l'agrégation de Tau et ouvrent de nouvelles approches thérapeutiques pour les tauopathies (Necula et coll., 2005 ; Khlistunova et coll., 2006).

Biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer : nouvelles perspectives d'aide au diagnostic

L'identification des acteurs et la compréhension des mécanismes impliqués dans l'étiopathogénèse de la maladie d'Alzheimer ont permis d'identifier des marqueurs biologiques de la pathologie. Actuellement, dans les centres experts et les réseaux spécialisés, les dosages dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) de trois biomarqueurs sont explorés pour l'aide au diagnostic de la maladie d'Alzheimer : les protéines Tau totales, les protéines Tau hyperphosphorylées (phospho-Tau) et le peptide A β 1-42. Utilisés séparément, chacun des trois dosages a une sensibilité et une spécificité supérieures à 80 % pour détecter la maladie d'Alzheimer. Associés, ils permettent, lorsque deux paramètres au moins sur trois sont modifiés, de prédire chez des patients atteints de troubles cognitifs légers l'évolution vers une maladie d'Alzheimer avec une spécificité supérieure à 90 %. Ils restent cependant insuffisants pour faire le diagnostic différentiel de la maladie d'Alzheimer avec une autre démence. Pour cela, d'autres marqueurs devront être développés.

Dosages des marqueurs peptide amyloïde, Tau et phospho-Tau dans le LCR

Pour les trois marqueurs, des techniques de dosage immunoenzymatiques de type sandwich (Elisa) sont commercialisées. Les plus couramment utilisées sont celles de la société belge Innogenetics¹⁴.

De nombreuses études ont montré que les concentrations du peptide A β 1-42 baissaient dans le LCR de patients atteints de maladie d'Alzheimer. Le peptide insoluble s'accumulerait dans les plaques séniles et ne passerait plus dans le LCR des malades. À partir de 16 études incluant au total plus de 650 patients présentant une maladie d'Alzheimer et 500 sujets témoins, la sensibilité moyenne de ce test était de 86 %, et la spécificité moyenne pour distinguer les sujets atteints des témoins était de 89 % (Blennow, 2004).

Les concentrations de protéines Tau dans le LCR reflètent l'intensité de la dégénérescence neuronale et/ou du dommage neuronal. Dans le LCR, la protéine Tau n'est pas complète et apparaît sous forme protéolysée (Sjogren et coll., 2001). La technique Elisa permet de détecter la majeure partie de ces fragments de protéine Tau dans le LCR (Blennow, 2004). Ce marqueur a été évalué dans plus de 50 études et une augmentation significative de ses concentrations dans le LCR des patients atteints de maladie d'Alzheimer a été démontrée. La sensibilité moyenne établie à partir de 20 études incluant au total plus de 2 000 patients ayant une maladie d'Alzheimer et 1 000 sujets témoins était de 86 % et la spécificité moyenne pour distinguer les malades Alzheimer des témoins de 91 % (Blennow, 2004). Cependant, on observe une augmentation modérée des concentrations de Tau dans le LCR de sujets non déments en fonction de l'âge (Burger née Buch et coll., 1999). De ce fait, l'âge du patient doit être considéré lorsque ce dosage est utilisé à des fins diagnostiques. L'étude de Burger née Buch préconise d'utiliser la valeur du seuil pathologique à 260 pg/ml de protéines Tau totales dans le LCR, valeur établie par Kurz et coll. (1998).

De nombreux sites de phosphorylation pathologiques ont été identifiés sur les protéines Tau. Des tests Elisa ont été développés pour détecter la protéine phospho-Tau dans le LCR des patients. Les épitopes les plus étudiés sont : la P-Thr181, la P-Thr231 et la P-Ser 199. Il semble qu'isolément, ils discriminent de la même façon les sujets atteints de maladie d'Alzheimer des témoins (Hampel et coll., 2004) : une augmentation des concentrations en P-Tau a été trouvée chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer avec tous les tests. Les valeurs du seuil pathologique dépendent des tests utilisés ; la sensibilité moyenne établie à partir de 13 études incluant au total plus de 1 000 malades Alzheimer et plus de 500 sujets témoins était de 81 % et la spécificité de 91% (Blennow, 2004).

La combinaison de deux ou trois marqueurs permet d'améliorer les performances diagnostiques de ces tests et d'atteindre alors des sensibilités et spécificités supérieures à 90 % (Blennow, 2004). La grande majorité des études ont évalué la corrélation des biomarqueurs avec la maladie d'Alzheimer sur la base d'un diagnostic utilisant uniquement des critères cliniques et para-cliniques comme l'imagerie cérébrale ou la neuropsychologie. Toutefois, on sait que les corrélations entre les diagnostics cliniques et autopsiques pour la maladie d'Alzheimer varient de 67 % à 90 % selon les centres (Lopez et coll., 2000). Aussi, ces biomarqueurs reflètent-ils vraiment les modifications cérébrales associées à la maladie d'Alzheimer ? Plusieurs études ont établi effectivement la corrélation des taux de peptide A β et protéine Tau avec les lésions neurofibrillaires et les plaques amyloïdes observées à l'examen *post mortem* (Strozyk et coll., 2003 ; Grossman et coll., 2005). La sensibilité et la spécificité de ces tests atteignent alors 80 %.

Ces tests, basés sur des techniques immunoenzymatiques de type Elisa, sont automatisables. Par ailleurs, le développement de nouvelles techniques de

dosage utilisant la technologie Luminex® permet la quantification simultanée de plusieurs marqueurs et va encore faciliter les analyses (Olsson et coll., 2005). Enfin, le coût de la mesure de la combinaison des trois marqueurs est de 3 à 4 fois inférieur à celui d'une IRM ou d'une débitmétrie cérébrale. Les critères d'un test utilisable pour le diagnostic de la maladie d'Alzheimer sont donc remplis.

Les biomarqueurs peuvent être utiles pour le diagnostic prédictif de la maladie d'Alzheimer. En effet, l'enjeu actuel dans cette pathologie est de pouvoir la diagnostiquer dans sa phase pré-clinique, lorsque les lésions neuropathologiques commencent à se développer. À ce stade, les symptômes sont encore absents ou consistent en des troubles cognitifs légers ou au MCI (*Mild Cognitive Impairment*), qui doivent être distingués de ceux dus au vieillissement. Cette phase pré-clinique s'étalerait sur environ 20 ans. Dans toutes les études portant sur des patients MCI, ceux ayant par la suite évolué vers une maladie d'Alzheimer (sujets dits « convertisseurs ») montrent des concentrations de Tau et phospho-Tau augmentées et des concentrations d'A β diminuées dans le LCR par comparaison à des sujets témoins (Andreasen et Blennow, 2005). Cependant, pour établir un diagnostic différentiel entre un patient MCI qui va progresser vers une maladie d'Alzheimer et ceux qui demeurent stables avec une sensibilité et une spécificité suffisantes (>80 %), il faut au moins deux marqueurs sur trois altérés (Andreasen et Blennow, 2005). Avec la combinaison des trois marqueurs, il est possible d'atteindre une sensibilité de 95 % et une spécificité de 87 % (Hansson et coll., 2006).

Autres marqueurs

Afin d'améliorer le diagnostic précoce et différentiel de la maladie d'Alzheimer, de nouveaux biomarqueurs doivent être validés dans le LCR. Parmi les candidats les plus prometteurs : des formes tronquées de A β , soit en N-terminal comme A β 2-42, A β 11-40, A β 11-42 ou A β 8-42 (Vanderstichele et coll., 2005), soit en C-terminal comme A β 1-16, A β 1-33 ou A β 1-39 (Bibl et coll., 2006). D'autres bons candidats sont les enzymes impliquées dans le métabolisme d'APP (BACE, neprilysine, IDE, ICE), du métabolisme de Tau (ubiquitine) ou des protéines associées aux lésions de la maladie d'Alzheimer (neuromoduline, protéines neurofilamentaires).

Sachant que 500 ml de LCR passent chaque jour dans la circulation sanguine d'un sujet adulte et que dans la maladie d'Alzheimer on observe une altération de la barrière hémato-encéphalique, les perspectives vont conduire vraisemblablement au développement de biomarqueurs dans le sang périphérique. La difficulté du dosage dans le sang réside dans le fait que les concentrations des composants à mesurer sont beaucoup plus faibles. Le peptide A β a été récemment mesuré dans le plasma et seul un suivi longitudinal permettra de conclure sur sa validité diagnostique (van Oijen et coll., 2006).

Par ailleurs, une autre étude récente a montré que deux marqueurs sanguins – le précurseur du facteur complément H et l'alpha-2 macroglobuline –

permettent de poser le diagnostic de maladie d'Alzheimer mais la sensibilité et la spécificité de ces tests sont de 60 %, ce qui est encore insuffisant si l'on considère les critères établis par le groupe consensus (Hye et coll., 2006).

En conclusion, une majorité des approches thérapeutiques innovantes sont focalisées sur le dysfonctionnement de l'APP et la cascade amyloïde (anti-amyloïde comme Alzhemed™, inhibiteurs de β - et γ -secrétases et immunothérapie). D'autres stratégies, visant la phosphorylation anormale des protéines Tau ou encore leur agrégation, sont d'ores et déjà également prometteuses. Par ailleurs, Tau apparaît comme un bon marqueur pour certaines formes précoces de maladie d'Alzheimer. L'approche biologique de la maladie d'Alzheimer a ainsi bénéficié de ces différentes recherches avec la quantification des protéines Tau totales, phosphorylées et du peptide A β dans le liquide céphalo-rachidien, tandis que d'autres candidats biologiques sont en train d'émerger qui pourraient être utiles au diagnostic.

BIBLIOGRAPHIE

- AISEN PS, SCHMEIDLER J, PASINETTI GM. Randomized pilot study of nimesulide treatment in Alzheimer's disease. *Neurology* 2002, **58** : 1050-1054
- AISEN PS, SCHAFFER N, GRUNDMAN M, PFEIFFER E, SANO M, et coll. Effects of rofecoxib or naproxen vs placebo on Alzheimer disease progression: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003, **289** : 2819-2826
- ALLEN B, INGRAM E, TAKAO M, SMITH MJ, JAKES R, et coll. Abundant tau filaments and monoprotic neurodegeneration in transgenic mice expressing human P301S tau protein. *J Neurosci* 2002, **21** : 9340-9351
- ALVES DA COSTA C, SUNYACH C, PARDOSSI-PIQUARD R, SEVALLE J, VINCENT B, et coll. Presenilin-dependent γ -secretase-mediated control of p53-associated cell death in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2006, **26** : 6377-6385
- ANDREASEN N, BLENNOW K. Csf biomarkers for mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Clin Neurol Neurosurg* 2005, **107** : 165-173
- ARBEL M, YACOBY I, SOLOMON B. Inhibition of amyloid precursor protein processing by β -secretase through site-directed antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, **102** : 7718-7723
- ARMOGIDA M, PETIT A, VINCENT B, SCARZELLO S, ALVES DA COSTA C, et coll. Endogenous β -amyloid production in presenilin-deficient embryonic mouse fibroblasts. *Nat Cell Biol* 2001, **3** : 1030-1033
- ASTHANA S, BAKER LD, TATE PS. Role of oestrogen in the treatment and prevention of Alzheimer's disease. *Exp Op Invest Drugs* 1997, **6** : 1203-1209

ASTHANA S, BAKER L, CRAFT S, STANCZYK F, VEITH R, et coll. High-dose estradiol improves cognition for women with AD: results of a randomized study. *Neurology* 2001, **57** : 605-612

ASUNI AA, BOUTAJANGOUT A, SCHOLTZOVA H, KNUDSEN E, LI YS, et coll. Vaccination of Alzheimer's model mice with abeta derivative in alum adjuvant reduces abeta burden without microhemorrhages. *Eur J Neurosci* 2006, **24** : 2530-2542

BACSKAI BJ, KAJDASZ ST, CHRISTIE RH, CARTER C, GAMES D, et coll. Imaging of amyloid-beta deposits in brains of living mice permits direct observation of clearance of plaques with immunotherapy. *Nat Med* 2001, **7** : 369-372

BACSKAI BJ, KAJDASZ ST, MCLELLAN ME, GAMES D, SEUBERT P et coll. Non-Fc-mediated mechanisms are involved in clearance of amyloid-beta in vivo by immunotherapy. *J Neurosci* 2002, **22** : 7873-7878

BAKER L, SAMBAMURTI K, CRAFT S, CHERRIER M, RASKIND M, et coll. 17beta-estradiol reduces plasma Abeta40 for HRT-naive postmenopausal women with Alzheimer disease: a preliminary study. *Am J Geriatr Psych* 2003, **11** : 239-244

BALES KR, VERINA T, DODEL RC, DU Y, ALSTIEL L, et coll. Lack of apolipoprotein E dramatically reduces amyloid β -peptide deposition. *Nature Genetics* 1997, **17** : 263-264

BARD F, CANNON C, BARBOUR R, BURKE RL, GAMES D, et coll. 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** : 916-919

BARD F, BARBOUR R, CANNON C, CARRETTO R, FOX M, et coll. Epitope and isotype specificities of antibodies to beta-amyloid peptide for protection against Alzheimer's disease-like neuropathology. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003, **100** : 2023-2028

BARTUS RT, DEAN RL, BEER B, LIPPAS AS. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 1982, **217** : 408-414

BAYER AJ, BULLOCK R, JONES RW, WILKINSON D, PATERSON KR, et coll. Evaluation of the safety and immunogenicity of synthetic abeta42 (An1792) in patients with AD. *Neurology* 2005, **64** : 94-101

BHAT RV, BUDD HAEBERLEIN SL, AVILA J. Glycogen synthase kinase 3: a drug target for Cns therapies. *J Neurochem* 2004, **89** : 1313-1317

BIBL M, MOLLENHAUER B, ESSELMANN H, LEWCZUK P, KLAFKI HW, et coll. Csf amyloid-beta-peptides in Alzheimer's disease, dementia with lewy bodies and Parkinson's Disease dementia. *Brain* 2006, **129** : 1177-1187

BLENNOW K. Cerebrospinal fluid protein biomarkers for Alzheimer's disease. *NeuroRx* 2004, **1** : 213-225

BLOOM FE, REILLY JF, REDWINE JM, WU CC, YOUNG WG, MORRISON JH. Mouse models of human neurodegenerative disorders: Requirements for medication development. *Arch Neurol* 2005, **62** :185-187

BODOWITZ S, KLEIN WL. Cholesterol modulates α -secretase cleavage of amyloid precursor protein. *J Biol Chem* 1996, **271** : 4436-4440

- BOMBOIS S, MAURAGE CA, GOMPEL M, DERAMECOURT V, MACKOWIAK-CORDOLIANI MA, et coll. Absence of abeta deposits after immunization in lewy body variant of Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 2007, **64** : 583-587
- BRENDZA RP, BACSKAI BJ, CIRRITO JR, SIMMONS KA, SKOCH JM, et coll. Anti-abeta antibody treatment promotes the rapid recovery of amyloid-associated neuritic dystrophy in P_{dapp} Transgenic mice. *J Clin Invest* 2005, **115** : 428-433
- BUÉE L, DELACOURTE A. Tauopathy and Alzheimer Disease: A full degenerating process. *Psychol Neuropsychiatr Vieil* 2006, **4** : 261-273
- BURBACH GJ, VLACHOS A, GHEBREMEDHIN E, DEL TURCO D, COOMARASWAMY J, et coll. Vessel ultrastructure in App23 transgenic mice after passive anti-abeta immunotherapy and subsequent intracerebral hemorrhage. *Neurobiol Aging* 2007, **28** : 202-212
- BURGER NÉE BUCH K, PADBERG F, NOLDE T, TEIPEL SJ, STUBNER S, et coll. Cerebrospinal fluid Tau protein shows a better discrimination in young old (<70 years) than in old old patients with Alzheimer's disease compared with controls. *Neurosci Lett* 1999, **277** : 21-24
- BUSSIERE T, BARD F, BARBOUR R, GRAJEDA H, GUIDO T, et coll. Morphological characterization of thioflavin-S-positive Amyloid plaques in transgenic Alzheimer mice and effect of passive abeta immunotherapy on their clearance. *Am J Pathol* 2004, **165** : 987-995
- BUTTINI M, MASLIAH E, BARBOUR R, GRAJEDA H, MOTTER R, et coll. Beta-amyloid immunotherapy prevents synaptic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2005, **25** : 9096-9101
- CAI H, WANG Y, MCCARTHY D, WEN H, BORCHELT DR, et coll. BACE1 is the major β -secretase for generation of A β peptides by neurons. *Nat Neurosci* 2001, **4** : 233-234
- CARSON JA, TURNER AJ. β -amyloid catabolism: roles for neprilysin (NEP) and other metallopeptidases. *J Neurochem* 2002, **81** : 1-8
- CHARTIER-HARLIN MC, ARARIA-GOUMIDI L, LAMBERT JC. Genetic complexity of Alzheimer's disease. *Rev Neurol Paris*, 2004, **160** : 251-255
- CHECLER F. Neuropeptide-degrading peptidases. In : Methods in neurotransmitters and neuropeptides research. Part 2. NAGATSU T, PARVEZ H, NAOI M, PARVEZ S (eds). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1993 : 375-418
- CHECLER F. Processing of the β -amyloid precursor protein and its regulation in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1995, **65** : 1431-1444
- CHERNY R, ATWOOD C, XILINAS M, GRAY D, JONES W, et coll. Treatment with a copper-zinc chelator markedly and rapidly inhibits beta-amyloid accumulation in Alzheimer's disease transgenic mice. *Neuron* 2001, **30** : 665-676
- CHURCHER I. Tau therapeutic strategies for the treatment of Alzheimer's disease. *Curr Top Med Chem* 2006, **6** : 579-595
- DAS P, HOWARD V, LOOSBROCK N, DICKSON D, MURPHY MP, GOLDE TE. Amyloid-beta immunization effectively reduces amyloid deposition in Fc γ 1 α 1 β Knock-out Mice. *J Neurosci* 2003, **23** : 8532-8538

DAS P, MURPHY MP, YOUNKIN LH, YOUNKIN SG, GOLDE TE. Reduced effectiveness of abeta1-42 immunization in App transgenic mice with significant amyloid deposition. *Neurobiol Aging* 2001, **22** : 721-727

DE STROOPER B. Aph-1, Pen-2, and nicastrin with presenilin generate an active γ -secretase complex. *Neuron* 2003, **38** : 9-12

DE STROOPER B, SAFTIG P, CRAESSAERTS K, VANDERSTICHELE H, GUHDE G, et coll. Deficiency of presenilin 1 inhibits the normal cleavage of amyloid precursor protein. *Nature* 1998, **391** : 387-390

DE STROOPER B, ANNAERT W, CUPERS P, SAFTIG P, CRAESSAERTS K, et coll. A presenilin-1-dependent γ -secretase-like protease mediates release of Notch intracellular domain. *Nature* 1999, **398** : 518-522

DELACOURTE A, BUÉE L. Animal models of Alzheimer's disease: A road full of pitfalls. *Psychol Neuropsychiatr Vieil* 2005, **3** : 261-270

DEMATTOS RB, BALES KR, CUMMINS DJ, DODART JC, PAUL SM, HOLTZMAN DM. Peripheral anti-a beta antibody alters Cns and plasma a beta clearance and decreases brain a beta burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001, **98** : 8850-8855

DEMATTOS RB, BALES KR, CUMMINS DJ, PAUL SM, HOLTZMAN DM. Brain to plasma amyloid-beta efflux: A measure of brain amyloid burden in a mouse model of Alzheimer's Disease. *Science* 2002, **295** : 2264-2267

DODART JC, BALES KR, GANNON KS, GREENE SJ, DEMATTOS RB, et coll. Immunization reverses memory deficits without reducing brain abeta burden in Alzheimer's disease model. *Nat Neurosci* 2002, **5** : 452-457

DODEL R, HAMPEL H, DEPBOYLU C, LIN S, GAO F, et coll. Human antibodies against amyloid beta peptide: A potential treatment for Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2002, **52** : 253-256

DODEL RC, DU Y, DEPBOYLU C, HAMPEL H, FROLICH L, et coll. Intravenous immunoglobulins containing antibodies against beta-amyloid for the treatment of Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004, **75** : 1472-1474

ENGELHART M, GEERLINGS M, RUITENBERG A, VAN SWIETEN J, HOFMAN A, et coll. Dietary intake of antioxidants and risk of Alzheimer disease. *JAMA* 2002, **287** : 3223-3229

ETCHEBERRIGARAY R, TAN M, DEWACHTER I, KUIPÉRI C, VAN DER AUWERA I, et coll. Therapeutic effects of PKC activators in Alzheimer's disease transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, **101** : 11141-11146

FERRER I, BOADA ROVIRA M, SANCHEZ GUERRA ML, REY MJ, COSTA-JUSSA F. Neuropathology and pathogenesis of encephalitis following amyloid-beta immunization in Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 2004, **14** : 11-20

FILLIT H. Intravenous immunoglobulins for Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2004, **3** : 704

FISCHER W, WICTORIN K, BJORKLUND A, WILLIAMS L, VARON S, GAGE F. Amelioration of cholinergic neuron atrophy and spatial memory impairment in aged rats by nerve growth factor. *Nature* 1987, **329** : 65-68

FOX NC, BLACK RS, GILMAN S, ROSSOR MN, GRIFFITH SG, et coll. Effects of abeta immunization (An1792) on Mri measures of cerebral volume in Alzheimer disease. *Neurology* 2005, **64** : 1563-1572

FRENKEL D, BALASS M, SOLOMON B. N-Terminal Efrh sequence of Alzheimer's beta-amyloid peptide represents the epitope of its anti-aggregating antibodies. *J Neuroimmunol* 1998, **88** : 85-90

FRENKEL D, BALASS M, KATCHALSKI-KATZIR E, SOLOMON B. High affinity binding of monoclonal antibodies to the sequential epitope efrh of beta-amyloid peptide is essential for modulation of fibrillar aggregation. *J Neuroimmunol* 1999, **95** : 136-142

FRENKEL D, KATZ O, SOLOMON B. Immunization against Alzheimer's beta -amyloid plaques via Efrh phage administration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000a, **97** : 11455-11459

FRENKEL D, SOLOMON B, BENHAR I. Modulation of Alzheimer's beta-amyloid neurotoxicity by site-directed single-chain antibody. *J Neuroimmunol* 2000b, **106** : 23-31

FRENKEL D, DORI M, SOLOMON B. Generation of Anti-beta-amyloid antibodies via phage display technology. *Vaccine* 2004, **22** : 2505-2508

FROLICH L, GOTZ M, WEINMULLER M, YODIM M, BARTH N, et coll. (r)-, but not (s)-alpha lipoic acid stimulates deficient brain pyruvate dehydrogenase complex in vascular dementia, but not in Alzheimer dementia. *J Neural Transm* 2004, **111** : 295-310

FU A-L, ZHANG X-M, SUN M-J. Antisense inhibition of acetylcholinesterase gene expression for treating cognition deficit in Alzheimer's disease model mice. *Brain Res* 2005, **1066** : 10-15

GAMES D, BUTTINI M, KOBAYASHI D, SCHENK D, SEUBERT P. Mice as models: Transgenic approaches and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2006, **9** : 133-149

GANDY S, WALKER L. Toward modeling hemorrhagic and encephalitic complications of Alzheimer amyloid-beta vaccination in nonhuman primates. *Curr Opin Immunol* 2004, **16** : 607-615

GASPARINI L, ONGINI E, WENK GL. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDS) in Alzheimer's disease: old and new mechanisms of action. *J Neurochem* 2004, **91** : 521-536

GEERLINGS M, LAUNER L, DE JONG F, RUITENBERG A, STIJNEN T, et coll. Endogenous estradiol and risk of dementia in women and men: the Rotterdam Study. *Ann Neurol* 2003, **53** : 607-615

GELINAS DS, DASILVA K, FENILI D, ST GEORGE-HYSLOP P, MCLAURIN J. Immunotherapy for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, **101** : 14657-14662

GERVAIS F, CHALIFOUR R, GARCEAU D, KONG X, LAURIN J, et coll. Glycosaminoglycan mimetics: a therapeutic approach to cerebral amyloid angiopathy. *Amyloid* 2001, **8** : 28-35

GERVAIS F, PAQUETTE J, MORISSETTE C, KRZYWKOWSKI P, YU M, et coll. Targeting soluble A β peptide with tramiprosate for the treatment of brain amyloidosis. *Neurobiol of Aging* 2006, doi:10.1016/j.neurobiolaging.2006.02.015

GERVAIS F. GAG mimetics: potential to modify underlying disease process in AD. *Neurobiol of Aging* 2004, **25** : S11-12

GHANBARI H, GHANBARI K, HARRIS P, JONES P, KUBAT Z, et coll. Oxidative damage in cultured human olfactory neurons from Alzheimer's disease patients. *Aging Cell* 2004, **3** : 41-44

GILMAN S, KOLLER M, BLACK RS, JENKINS L, GRIFFITH SG, et coll. Clinical effects of abeta immunization (An1792) in patients with AD in an interrupted trial. *Neurology* 2005, **64** : 1553-1562

GLABE CG, KAYED R. Common structure and toxic function of amyloid oligomers implies a common mechanism of pathogenesis. *Neurology* 2006, **66** : S74-78

GLATZ DC, RUJESCU D, TANG Y, BERENDT FJ, HARTMANN AM, et coll. The alternative splicing of Tau exon 10 and its regulatory proteins Clk2 and Tra2-Beta1 changes in sporadic Alzheimer's Disease. *J Neurochem* 2006, **96** : 635-644

GOTZ J, CHEN F, BARMETTLER R, NITSCH RM. Tau filament formation in transgenic mice expressing P3011 Tau. *J Biol Chem* 2001, **276** : 529-534

GROSSMAN M, FARMER J, LEIGHT S, WORK M, MOORE P, et coll. Cerebrospinal fluid profile in frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2005, **57** : 721-729

GUTZMANN H, HADLER D. Sustained efficacy and safety of idebenone in the treatment of Alzheimer's disease: update on a 2-year double-blind multicentre study. *J Neural Transm* 1998, **54** : 301-310

HAMDANE M, SMET C, SAMBO AV, LEROY A, WIERUSZESKI JM, et coll. Pin1: A therapeutic target in Alzheimer neurodegeneration. *J Mol Neurosci* 2002, **19** : 275-287

HAMDANE M, DOURLLEN P, BRETTEVILLE A, SAMBO AV, FERREIRA S, et coll. Pin1 allows for differential Tau dephosphorylation in neuronal cells. *Mol Cell Neurosci* 2006, **32** : 155-160

HAMPEL H, BUERGER K, ZINKOWSKI R, TEIPEL SJ, GOERNITZ A, et coll. Measurement of phosphorylated Tau epitopes in the differential diagnosis of Alzheimer disease: A comparative cerebrospinal fluid study. *Arch Gen Psychiatry* 2004, **61** : 95-102

HANSSON O, ZETTERBERG H, BUCHHAVE P, LONDOS E, BLENNOW K, MINTHON L. Association between Csf biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: A follow-up study. *Lancet Neurol* 2006, **5** : 228-234

HARDY J. Alzheimer's disease: The amyloid cascade hypothesis: An update and reappraisal. *J Alzheimers Dis* 2006, **9** : 151-153

HARTMAN RE, IZUMI Y, BALES KR, PAUL SM, WOZNIAK DF, HOLTZMAN DM. Treatment with an amyloid-beta antibody ameliorates plaque load, learning deficits, and hippocampal long-term potentiation in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2005, **25** : 6213-6220

HEAD E, BARRETT EG, MURPHY MP, DAS P, NISTOR M, et coll. Immunization with fibrillar abeta(1-42) in young and aged canines: Antibody generation and characteristics, and effects on Csf and brain abeta. *Vaccine* 2006, **24** : 2824-2834

- HERREMAN A, SERNEELS L, ANNAERT W, COLLEN D, SCHOONJANS L, DE STROOPER B. Total inactivation of γ -secretase activity in presenilin-deficient embryonic stem cells. *Nat Cell Biol* 2000, **2** : 461-462
- HOCK C, KONIETZKO U, PAPASSOTIROPOULOS A, WOLLMER A, STREFFER J, et coll. Generation of antibodies specific for beta-amyloid by vaccination of patients with Alzheimer disease. *Nat Med* 2002, **8** : 1270-1275
- HOCK C, KONIETZKO U, STREFFER JR, TRACY J, SIGNORELL A, et coll. Antibodies against beta-amyloid slow cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neuron* 2003, **38** : 547-554
- HOLTZMAN DM, BALES KR, PAUL SM, DEMATTOS RB. A β immunization and anti- β antibodies: Potential Therapies for the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Adv Drug Deliv Rev* 2002, **54** : 1603-1613
- HUDSON S, TABEL N. Acetyl-L-carnitine for dementia. *Cochrane Database Syst Rev* 2003, CD003158
- HUSSAIN I, POWELL D, HOWLETT DR, TEW DG, MEEK TD, et coll. Identification of a novel aspartic protease (Asp2) as β -secretase. *Mol Cell Neurosci* 1999, **14** : 419-427
- HYE A, LYNHAM S, THAMBISETTY M, CAUSEVIC M, CAMPBELL J, et coll. Proteome-based plasma biomarkers for Alzheimer's disease. *Brain* 2006, **129** : 3042-3050
- IBACH B, HAEN E, MARIENHAGEN J, HAJAK G. Clioquinol treatment in familial early onset of Alzheimer's disease: a case report. *Pharmacopsychiatry* 2005, **38** : 178-179
- IQBAL K, GRUNDKE-IQBAL I. Pharmacological approaches of neurofibrillary degeneration. *Curr Alzheimer Res* 2005, **2** : 335-341
- ISTRIN G, BOSIS E, SOLOMON B. Intravenous immunoglobulin enhances the clearance of fibrillar amyloid-beta peptide. *J Neurosci Res* 2006, **84** : 434-443
- JANUS C, PEARSON J, MCLAURIN J, MATHEWS PM, JIANG Y, et coll. A beta peptide immunization reduces behavioural impairment and plaques in a model of Alzheimer's disease. *Nature* 2000, **408** : 979-982
- JARVIK G, WIJSMAN E, KUKULL W, SCHELLENBERG G, YU C, LARSON E. Interactions of apolipoprotein E genotype, total cholesterol level, age, and sex in prediction of Alzheimer's disease: a case-control study. *Neurology* 1995, **45** : 1092-1096
- JICK H, ZORNBERG GL, JICK SS, SESHADRI S, DRACHMAN DA. Statins and the risk of dementia. *Lancet* 2000, **356** : 1627-1631. Erratum in: *Lancet* 2001, **357** : 562
- KALVODOVA L, KAHYA N, SCHWILLE P, EHEHALT R, VERKADE P, et coll. Lipids as modulators of proteolytic activity of BACE: Involvement of cholesterol, glycosphingolipids, and anionic phospholipids in vitro. *J Biol Chem* 2005, **280** : 36815-36823
- KHLISTUNOVA I, BIERNAT J, WANG Y, PICKHARDT M, VON BERGEN M, et coll. Inducible expression of Tau repeat domain in cell models of tauopathy: Aggregation is toxic to cells but can be reversed by inhibitor drugs. *J Biol Chem* 2006, **281** : 1205-1214
- KITAZUME S, NAKAGAWA K, OKA R, TACHIDA Y, OGAWA K, et coll. *In vivo* cleavage of α 2,6-sialyltransferase by Alzheimer's β -secretase. *J Biol Chem* 2005, **280** : 8589-8595

KLUNK W, DEBNATH M, KOROS A, PETTEGREW J. Chrysamine-G, a lipophilic analogue of congo red, inhibits a beta-induced toxicity in PC12 cells. *Life Sci* 1998, **63** : 1807-1814

KLYUBIN I, WALSH DM, LEMERE CA, CULLEN WK, SHANKAR GM, et coll. Amyloid beta protein immunotherapy neutralizes abeta oligomers that disrupt synaptic plasticity *in vivo*. *Nat Med* 2005, **11** : 556-561

KOPAN R, GOATE A. A common enzyme connects Notch signaling and Alzheimer's disease. *Genes & Development* 2000, **14** : 2799-2806

KOTILINEK LA, BACSKAI B, WESTERMAN M, KAWARABAYASHI T, YOUNKIN L, et coll. Reversible memory loss in a mouse transgenic model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2002, **22** : 6331-6335

KURZ A, RIEMENSCHNEIDER M, BUCH K, WILLOCH F, BARTENSTEIN P, et coll. Tau protein in cerebrospinal fluid is significantly increased at the earliest clinical stage of Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1998, **12** : 372-377

LAI M-T, CROUTHAMEL M-C, DIMUZIO J, PIETRAK BL, DONOVIEL DB, et coll. A presenilin-independent aspartyl protease prefers the γ -42 site cleavage. *J Neurochem* 2006, **96** : 118-125

LE CORRE S, KLAFKI HW, PLESNILA N, HUBINGER G, OBERMEIER A, et coll. An Inhibitor of Tau hyperphosphorylation prevents severe motor impairments in Tau transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006, **103** : 9673-9678

LESNE S, KOH MT, KOTILINEK L, KAYED R, GLABE CG, et coll. A Specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory. *Nature* 2006, **440** : 352-357

LEVI-MONTALCINI R. The nerve growth factor 35 years later. *Science* 1987, **237** : 1154-1162

LEWIS J, MCGOWAN E, ROCKWOOD J, MELROSE H, NACHARAJU P, et coll. Neurofibrillary tangles, amyotrophy and progressive motor disturbance in mice expressing mutant (P301I) Tau protein. *Nat Genet* 2000, **25** : 402-405

LIN X, KOELSCH G, WU S, DOWNS D, DASHTI A, TANG J. Human aspartyl protease memapsin 2 cleaves the beta-secretase site of beta-amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000, **97** : 1456-1460

LIPPENS G, SILLEN A, SMET C, WIERUSZESKI JM, LEROY A, et coll. Studying the natively unfolded neuronal Tau protein by solution NMR spectroscopy. *Protein Pept Lett* 2006, **13** : 235-246

LLEO A, GREENBERG S, JH G. Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. *Annu Rev Med* 2006, **57** : 513-533

LOMBARDO JA, STERN EA, MCLELLAN ME, KAJDASZ ST, HICKEY GA, et coll. Amyloid-beta antibody treatment leads to rapid normalization of plaque-induced neuritic alterations. *J Neurosci* 2003, **23** : 10879-10883

LOPEZ OL, BECKER JT, KLUNK W, SAXTON J, HAMILTON RL, et coll. Research evaluation and diagnosis of possible Alzheimer's disease over the last two decades: II. *Neurology* 2000, **55** : 1863-1869

LU KP. Pinning down cell signaling, cancer and Alzheimer's disease. *Trends Biochem Sci* 2004, **29** : 200-209

LUO Y, BOLON B, KAHN S, BENNETT BD, BABU-KHAN S, et coll. Mice deficient in BACE1, the Alzheimer's β -secretase, have normal phenotype and abolished β -amyloid generation. *Nat Neurosci* 2001, **4** : 231-232

MANDELKOW EM, STAMER K, VOGEL R, THIES E, MANDELKOW E. Clogging of axons by Tau, inhibition of axonal traffic and starvation of synapses. *Neurobiol Aging* 2003, **24** : 1079-1085

MASLIAH E, HANSEN L, ADAME A, CREWS L, BARD F, et coll. Abeta vaccination effects on plaque pathology in the absence of encephalitis in Alzheimer disease. *Neurology* 2005a, **64** : 129-131

MASLIAH E, ROCKENSTEIN E, ADAME A, ALFORD M, CREWS L, et coll. Effects of alpha-synuclein immunization in a mouse model of Parkinson's disease. *Neuron* 2005b, **46** : 857-868

MIGLIORE L, FONTANA I, TRIPPI F, COLOGNATO R, COPPEDE F, et coll. Oxidative DNA damage in peripheral leukocytes of mild cognitive impairment and AD patients. *Neurobiol Aging* 2005, **26** : 567-573

MORGAN D, DIAMOND DM, GOTTSCHALL PE, UGEN KE, DICKEY C, et coll. A beta peptide vaccination prevents memory loss in an animal model of Alzheimer's disease. *Nature* 2000, **408** : 982-985

MORRIS M, EVANS D, BIENIAS J, TANGNEY C, BENNETT D, et coll. Dietary intake of antioxidant nutrients and the risk of incident Alzheimer disease in a biracial community study. *JAMA* 2002, **287** : 3230-3237

NECULA M, CHIRITA CN, KURET J. Cyanine dye N744 Inhibits Tau fibrillization by blocking filament extension: Implications for the treatment of tauopathic neurodegenerative diseases. *Biochemistry* 2005, **44** : 10227-10237

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** : 448-452

NICOLL JA, BARTON E, BOCHE D, NEAL JW, FERRER I, et coll. Abeta species removal after abeta42 immunization. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006, **65** : 1040-1048

NIKOLIC WV, BAI Y, OBREGON D, HOU H, MORI T, et coll. Transcutaneous beta-amyloid immunization reduces cerebral beta-amyloid deposits without T cell infiltration and microhemorrhage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, **104** : 2507-2512. Epub 2007 Jan 30

NOBLE W, PLANEL E, ZEHR C, OLM V, MEYERSON J, et coll. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by lithium correlates with reduced tauopathy and degeneration in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, **102** : 6990-6995

ODDO S, BILLINGS L, KESSLAK JP, CRIBBS DH, LAFERLA FM. Abeta immunotherapy leads to clearance of early, but not late, hyperphosphorylated Tau aggregates via the proteasome. *Neuron* 2004, **43** : 321-332

OLSSON A, VANDERSTICHELE H, ANDREASEN N, DE MEYER G, WALLIN A, et coll. Simultaneous measurement of beta-amyloid(1-42), total Tau, and phosphorylated Tau (Thr181) in cerebrospinal fluid by the Xmap technology. *Clin Chem* 2005, **51** : 336-345

ORGOGOZO JM, GILMAN S, DARTIGUES JF, LAURENT B, PUEL M, et coll. Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after abeta42 immunization. *Neurology* 2003, **61** : 46-54

PARDODOSSI-PIQUARD R, PETIT A, KAWARAI T, SUNYACH C, ALVES DA COSTA C, et coll. Presenilin-dependent transcriptional control of the A β -degrading enzyme neprilysin by intracellular domains of β APP and APLP. *Neuron* 2005, **46** : 541-554

PARDOSI-PIQUARD R, DUNYS J, YU G, ST GEORGE-HYSLOP P, ALVES DA COSTA C, CHECLER F. Neprilysin activity and expression are controlled by nicastrin. *J Neurochem* 2006, **97** : 1052-1056

PERRY G, CASTELLANI R, SMITH M, HARRIS P, KUBAT Z, et coll. Oxidative damage in the olfactory system in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 2003, **106** : 552-556

PETERSEN R, THOMAS R, GRUNDMAN M, BENNETT D, DOODY R, et coll. Vitamin E and donepezil for the treatment of mild cognitive impairment. *N Engl J Med* 2005, **352** : 2379-2388

PICKHARDT M, GAZOVA Z, VON BERGEN M, KHLISTUNOVA I, WANG Y, et coll. Anthraquinones inhibit Tau aggregation and dissolve Alzheimer's paired helical filaments in vitro and in cells. *J Biol Chem* 2005a, **280** : 3628-3635

PICKHARDT M, VON BERGEN M, GAZOVA Z, HASCHER A, BIERNAT J, et coll. Screening for inhibitors of Tau polymerization. *Curr Alzheimer Res* 2005b, **2** : 219-226

PRATICO D, TROJANOVSKI JQ. Inflammatory hypotheses: novel mechanisms of Alzheimer's neurodegeneration and new therapeutic targets? *Neurobiol Aging* 2000, **21** : 441-445

RACCHI M, BAETTA R, SALVIETTI N, IANNA P, FRANCESCHINI G, et coll. Secretory processing of amyloid precursor protein is inhibited by increase in cellular cholesterol content. *Biochem J* 1997, **322** : 893-898

RACKE MM, BOONE LI, HEPBURN DL, PARSADAINIAN M, BRYAN MT, et coll. 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 beta. *J Neurosci* 2005, **25** : 629-636.

RAMAN B, BAN T, YAMAGUCHI K, SAKAI M, KAWAI T, et coll. Metal ion-dependent effects of clioquinol on the fibril growth of an amyloid {beta} peptide. *J Biol Chem* 2005, **280** : 16157-16162

REFOLO L, MALESTER B, LAFRANCOIS J, BRYANT-THOMAS T, WANG R, et coll. Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model. *Neurobiol Dis* 2000, **7** : 321-331

REINES S, BLOCK G, MORRIS J, LIU G, NESSLY M, et coll. ROFECOXIB: no effect on Alzheimer's disease in a 1-year, randomized, blinded, controlled study. *Neurology* 2004, **62** : 66-71

RITCHIE C, BUSH A, MACKINNON A, MACFARLANE S, MASTWYK M, et coll. Metal-protein attenuation with iodochlorhydroxyquin (clioquinol) targeting Abeta amyloid deposition and toxicity in Alzheimer disease: a pilot phase 2 clinical trial. *Arch Neurol* 2003, **60** : 1685-1691

ROBERDS SL, ANDERSON J, BASI G, BIENKOWSKI MJ, BRANSTETTER DG, et coll. BACE knockout mice are healthy despite lacking the primary β -secretase activity in brain: implications for Alzheimer's disease therapeutics. *Hum Mol Gen* 2001, **10** : 1317-1324

SADOWSKI M, WISNIEWSKI T. Vaccines for conformational disorders. *Expert Rev Vaccines*, 2004, **3** : 279-290

SANO M, ERNESTO C, THOMAS R, KLAUBER M, SCHAFER K, et coll. A controlled trial of selegiline, alpha-tocopherol, or both as treatment for Alzheimer's disease. The Alzheimer's disease cooperative study. *N Engl J Med* 1997, **336** : 1216-1222

SANTACRUZ K, LEWIS J, SPIRES T, PAULSON J, KOTILINEK L, et coll. Tau Suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. *Science* 2005, **309** : 476-481

SAVAGE M, TRUSKO SP, HOWLAND DS, PINSKER LR, MISTRETTA S, et coll. Turnover of amyloid β -protein in mouse brain and acute reduction of its level by phorbol ester. *J Neurosci* 1998, **18** : 1743-1752

SCHENK D. Amyloid-beta immunotherapy for Alzheimer's disease: The end of the beginning. *Nat Rev Neurosci* 2002, **3** : 824-828

SCHENK D. Treatment of Alzheimer's disease: The beginning of a new era. *Curr Alzheimer Res* 2006, **3** : 177

SCHENK D, HAGEN M, SEUBERT P. Current progress in beta-amyloid immunotherapy. *Curr Opin Immunol* 2004, **16** : 599-606

SCHENK D, BARBOUR R, DUNN, W, GORDON G, GRAJEDA H, et coll. Immunization with amyloid-beta attenuates alzheimer-disease-like pathology in the Pdapp mouse. *Nature* 1999, **400** : 173-177

SCHENK DB, SEUBERT P, GRUNDMAN M, BLACK R. A Beta immunotherapy: Lessons learned for potential treatment of Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis* 2005, **2** : 255-260

SCHINDOWSKI K, BRETTEVILLE A, LEROY K, BEGARD S, BRION JP, et coll. Alzheimer's disease-like Tau neuropathology leads to memory deficits and loss of functional synapses in a novel mutated Tau transgenic mouse without any motor deficits. *Am J Pathol* 2006, **169** : 599-616

SERGEANT N, BOMBOIS S, GHESTEM A, DROBECQ H, KOSTANJEVECKI V, et coll. Truncated beta-amyloid peptide species in pre-clinical Alzheimer's disease as new targets for the vaccination approach. *J Neurochem* 2003, **85** : 1581-1591

SHEPHERD J, BLAUW G, MURPHY M, BOLLEN E, BUCKLEY B, et coll. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. *Lancet* 2002, **360** : 1623-1630

SIDERA C, PARSONS R, AUSTEN BM. The regulation of β -secretase by cholesterol and statins in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 2005, **229-230** : 269-273

SIEMERS ER, QUINN JF, KAYE J, FARLOW MR, PORSTEINSSON A, et coll. Effects of a γ -secretase inhibitor in a randomized study of patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 2006, **66** : 602-604

SINGER O, MARR RA, ROCKENSTEIN E, CREWS L, COUFAL NG, et coll. Targeting BACE1 with siRNAs ameliorates Alzheimer disease neuropathology in a transgenic model. *Nat Neurosci* 2005, **8** : 1343-1349

SINHA S, ANDERSON JP, BARBOUR R, BASI GS, CACCAVELLO R, et coll. Purification and cloning of amyloid precursor protein β -secretase from human brain. *Nature* 1999, **402** : 537-540

SJOGREN M, DAVIDSSON P, TULLBERG M, MINTHON L, WALLIN A, et coll. Both total and phosphorylated Tau are increased in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001, **70** : 624-630

SMET C, SAMBO AV, WIERUSZESKI JM, LEROY A, LANDRIEU I, et coll. The Peptidyl prolyl Cis/Trans-isomerase Pin1 recognizes the phospho-Thr212-Pro213 site on Tau. *Biochemistry* 2004, **43** : 2032-2040

SMET C, DUCKERT JF, WIERUSZESKI JM, LANDRIEU I, BUÉE L, et coll. Control of protein-protein interactions: Structure-based discovery of low molecular weight inhibitors of the interactions between Pin1 Ww domain and phosphopeptides. *J Med Chem* 2005a, **48** : 4815-4823

SMET C, WIERUSZESKI JM, BUÉE L, LANDRIEU I, LIPPENS G. Regulation of Pin1 peptidyl-prolyl Cis/Trans isomerase activity by its Ww binding module on a multi-phosphorylated peptide of Tau protein. *FEBS Lett* 2005b, **579** : 4159-4164

SOLOMON B. Immunotherapeutic strategies for prevention and treatment of Alzheimer's disease. *DNA Cell Biol* 2001, **20** : 697-703

SOLOMON B. Anti-aggregating antibodies, a new approach towards treatment of conformational diseases. *Curr Med Chem* 2002, **9** : 1737-1749

SOLOMON B. Generation of anti-beta-amyloid antibodies via phage display technology towards Alzheimer's disease vaccination. *Vaccine* 2005, **23** : 2327-2330

SOLOMON B, FRENKEL D. Generation and brain delivery of anti-aggregating antibodies against beta-amyloid plaques using phage display technology. *J Neural Transm Suppl* 2002, **62** : 321-325

SONG E-S, JULIANO MA, JULIANO L, HERSH LB. Substrate activation of insulin-degrading enzyme (insulysin). A potential target for drug development. *J Biol Chem* 2003, **278** : 49789-49794

STRITTMATTER WJ, ROSES AD. Apolipoprotein E and Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, **92** : 4725-4727

STROZYK D, BLENNOW K, WHITE LR, LAUNER LJ. Csf Abeta 42 Levels Correlate with Amyloid-Neuropathology in a Population-Based Autopsy Study. *Neurology* 2003, **60** : 652-656

SZEKELY CA, THORNE JE, ZANDI PP. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for the prevention of Alzheimer's disease: a systematic review. *Neuroepidemiology* 2004, **23** : 159-169

TAKEDA A, LOVEMAN E, CLEGG A, KIRBY J, PICOT J, et coll. A systematic review of the clinical effectiveness of donepezil, rivastigmine and galantamine on cognition, quality of life and adverse events in Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry* 2006, **21** : 17-28

TARIOT P, FARLOW M, GROSSBERG G, GRAHAM S, MCDONALD S, GERGEL I. Memantine treatment in patients with moderate to severe Alzheimer disease already receiving donepezil: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004, **291** : 317-324

THAL L, THOMAS R, MULNARD R, SANO M, GRUNDMAN M, SCHNEIDER L. Estrogen levels do not correlate with improvement in cognition. *Arch Neurol* 2003a, **60** : 209-212

THAL L, GRUNDMAN M, BERG J, ERNSTROM K, MARGOLIN R, et coll. Idebenone treatment fails to slow cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neurology* 2003b, **61** : 1498-1502

TSAI LH, LEE MS, CRUZ J. Cdk5, a Therapeutic target for Alzheimer's disease? *Biochim Biophys Acta* 2004, **1697** : 137-142

TUSZYNSKI MH, U H-S, AMARAL DG, GAGE FH. Nerve growth factor infusion in primate brain reduces lesion-induced cholinergic neuronal degeneration. *J Neurosci* 1990, **10** : 3604-3614

TUSZYNSKI MH, THAL L, PAY M, SALMON DP, U H-S, et coll. A phase 1 clinical trial of nerve growth factor gene therapy for Alzheimer's disease. *Nat Med* 2005, **11** : 551-555

VAN OIJEN M, HOFMAN A, SOARES HD, KOUDSTAAL PJ, BRETILER MM. Plasma A β (1-40) and A β (1-42) and the risk of dementia: A prospective case-cohort study. *Lancet Neurol* 2006, **5** : 655-660

VANDERSTICHELE H, DE MEYER G, ANDREASEN N, KOSTANJEVECKI V, WALLIN A, et coll. Amino-truncated beta-amyloid₄₂ peptides in cerebrospinal fluid and prediction of progression of mild cognitive impairment. *Clin Chem* 2005, **51** : 1650-1660

VASSAR R, BENNETT BD, BABU-KHAN S, KHAN S, MENDIAZ EA, et coll. β -secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* 1999, **286** : 735-741

WEGGEN S, ERIKSEN JL, DAS P, SAGI SA, WANG R, et coll. A subset of NSAIDs lower amyloidogenic Ab₄₂ independently of cyclooxygenase activity. *Nature* 2001, **414** : 212-216

WEYER G, BABEJ-DOLLE R, HADLER D, HOFMANN S, HERRMANN W. A controlled study of 2 doses of idebenone in the treatment of Alzheimer's disease. *Neuropsychobiology* 1997, **36** : 73-82

WILCOCK DM, DICARLO G, HENDERSON D, JACKSON J, CLARKE K, et coll. Intracranially administered anti- β antibodies reduce β -amyloid deposition by mechanisms both independent of and associated with microglial activation. *J Neurosci* 2003, **23** : 3745-3751

WILCOCK DM, MUNIREDDY SK, ROSENTHAL A, UGEN KE, GORDON MN, MORGAN D. Microglial activation facilitates β plaque removal following intracranial anti- β antibody administration. *Neurobiol Dis* 2004a, **15** : 11-20

WILCOCK DM, ROJIANI A, ROSENTHAL A, SUBBARAO S, FREEMAN MJ, GORDON MN, MORGAN D. Passive immunotherapy against β in aged App-transgenic mice reverses cognitive deficits and depletes parenchymal amyloid deposits in spite of increased vascular amyloid and microhemorrhage. *J Neuroinflammation* 2004b, **1** : 24

- WILCOCK DM, ALAMED J, GOTTSCHALL PE, GRIMM J, ROSENTHAL A, et coll. Deglycosylated anti-amyloid-beta antibodies eliminate cognitive deficits and reduce parenchymal amyloid with minimal vascular consequences in aged amyloid precursor protein transgenic mice. *J Neurosci* 2006, **26** : 5340-5346
- WILLEM M, GARRATT AN, NOVAK B, CITRON M, KAUFMANN S, et coll. Control of peripheral nerve myelination by the beta-secretase BACE1. *Science* 2006, **314** : 664-666
- WILSON CA, DOMS RW, LEE VM-Y. Distinct presenilin-dependent and presenilin-independent γ -secretases are responsible for total cellular A β production. *J Neurosci Res* 2003, **74** : 361-369
- WISNIEWSKI T, BROWN DR, SIGURDSSON EM. Therapeutics in Alzheimer's and prion diseases. *Biochem Soc Trans* 2002, **30** : 574-578
- WOLOZIN B. Cholesterol and the biology of Alzheimers' disease. *Neuron* 2004, **41** : 7-10
- WOLOZIN B, KELLMAN W, ROUSSEAU P, CELESIA GG, SIEGEL G. Decreased prevalence of Alzheimer's disease associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor. *Arch Neurol* 2000, **57** : 1439-1443
- XU H, GOURAS GK, GREENFIELD JP, VINCENT B, NASLUND J, et coll. Estrogen reduces neuronal generation of Alzheimer β -amyloid peptides. *Nature Medicine* 1998, **4** : 447-451
- YAN R, BIENKOWSKI MJ, SHUCK ME, MIAO H, TORY MC, et coll. Membrane-anchored aspartyl protease with Alzheimer's disease β -secretase activity. *Nature* 1999, **402** : 533-537
- ZANDI P, ANTHONY J, KHACHATURIAN A, STONE S, GUSTAFSON D, et coll. Reduced risk of Alzheimer disease in users of antioxidant vitamin supplements: the Cache County Study. *Arch Neurol* 2004, **61** : 82-88
- ZHANG Z, NADEAU P, SONG W, DONOVIEL D, YUAN M, et coll. Presenilins are required for γ -secretase cleavage of β APP and transmembrane cleavage of Notch. *Nat Cell Biol* 2000, **2** : 463-465
- ZHANG B, MAITI A, SHIVELY S, LAKHANI F, MCDONALD-JONES G, et coll. Microtubule-binding drugs offset Tau sequestration by stabilizing microtubules and reversing fast axonal transport deficits in a tauopathy model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, **102** : 227-231