



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN FARMACIA

TESI DI LAUREA

**IMMUNOTERAPIA PER LA MALATTIA DI ALZHEIMER:
STATO DELL'ARTE E PROSPETTIVE**

Relatrice/Relatore: CHIAR.MO Prof.ssa ORSO GENNY

**Laureanda: Anna Chiecchi
Matricola: 1196977**

Anno Accademico 2023/2024

INDICE

CAPITOLO 1: INTRODUZIONE ALLA MALATTIA DI ALZHEIMER	1
1.1 EPIDEMIOLOGIA	1
1.2 LE ORIGINI DELLA MALATTIA DI ALZHEIMER	2
1.3 CLASSIFICAZIONE DELLA MALATTIA DI ALZHEIMER	2
CAPITOLO 2: I MECCANISMI PATOGENETICI DELLA MALATTIA DI ALZHEIMER.....	3
2.1 LE PLACCHE BETA-AMILOIDI:	3
2.2 LA PROTEINA TAU	6
2.3 AUTOFAGIA	7
2.4 NEUROINFIAMMAZIONE: IL RUOLO DELLA MICROGLIA	8
2.5 DISFUNZIONE MITOCONDRIALE E STRESS OSSIDATIVO	11
2.6 IPOTESI COLINERGICA	12
2.7 IPOTESI GLUTAMMATERGICA	12
CAPITOLO 3 : ASPETTI CLINICI.....	14
3.1 PATTERN TOPOGRAFICO : DOVE SI SVILUPPA	14
3.1.1 RISONANZA MAGNETICA PER IMMAGINE	15
3.1.2 FLUORODEOSSIGLUCOSIO-PET	15
3.1.3 AMILOIDE-PET	16
3.1.4 TAU-PET	16
3.2 CRITERI CLINICO-DIAGNOSTICI	17
3.3 CAMBIAMENTI NEUROPATOLOGICI NELL'ALZHEIMER.....	18
3.4 PLACCHE SENILI BETA-AMILOIDI	18
3.5 GROVIGLI NEUROFIBRILLARI	19
3.6 PERDITA SINAPTICA	19
3.7 STADI DELLA MALATTIA DI ALZHEIMER	21
CAPITOLO 4 : CAUSE E FATTORI DI RISCHIO	22
4.1 INVECCHIAMENTO	22
4.2 IL FATTORE GENETICO	23
4.3 APOLIPOPROTEINA E	23
4.4 PROTEINA PRECURSORE DELL'AMILOIDE (APP)	24
4.5 PRESENILINA-1 (PSEN-1) E PRESENILINA-2 (PSEN-2).....	24
4.6 ATP BINDING CASSETTE TRANSPORTER A1 (ABCA1).....	25
4.7 IL GENE DELLA CLUSTERINA (CLU)	26
4.8 BRIDGING INTEGRATOR 1 (BIN1)	26
4.9 EVOLUTIONARILY CONSERVED SIGNALLING INTERMEDIATE IN TOLL PATHWAY (ECSIT)	27
4.10 GENE DEL RECETTORE DEGLI ESTROGENI (ESR).....	28
4.11 ALTRI GENI	29
4.12 FATTORI EPIGENETICI	29
4.13 LIVELLO DI ISTRUZIONE	30
4.14 FATTORI ESTERNI.....	30
4.14.1 INQUINAMENTO DELL'ARIA.....	31

4.14.2 DIETA	31
4.14.3 INFEZIONI	31
4.14.4 IL RUOLO DEI METALLI	32
4.15 FATTORI MEDICI	35
4.15.1 DISTURBI CARDIOVASCOLARI	36
4.15.2 OBESITÀ E DIABETE	36
4.16 FATTORI DI RISCHIO SECONDARI	37
4.17 FATTORI DI PROTEZIONE	37
<u>CAPITOLO 5 : VALUTAZIONE CLINICA E DIAGNOSI</u>	<u>38</u>
5.1 VALUTAZIONE DEL PAZIENTE DA PARTE DEL MEDICO	38
5.2 BIOMARCATORI	39
5.3 TEST DI FOLSTEIN o MMSE	39
5.4 ALTRI TEST PER VALUTARE LA FUNZIONALITA' COGNITIVA	42
5.5 QUALITA' DELLA VITA	43
<u>CAPITOLO 6 : TRATTAMENTO SINTOMATICO DELLA MALATTIA DI ALZHEIMER</u>	<u>45</u>
6.1 FARMACI ANTI-ACETICOLINESTERASI	45
6.1.1 DONEPEZIL CLORIDRATO	46
6.1.2 RIVASTIGMINA TARTRATO	47
6.1.3 GALANTAMINA CLORIDRATO	48
6.2 ANTAGONISTI DEL RECETTORE NMDA	49
6.2.1 MEMANTINA CLORIDRATO	49
6.3 TERAPIA DI COMBINAZIONE MEMANTINA/DONEPEZIL	50
<u>CAPITOLO 7 : TERAPIA FARMACOLOGICA</u>	<u>51</u>
7.1 IMMUNOTERAPIA BASATA SULLA BETA-AMILOIDE	51
7.1.1 IMMUNOTERAPIA ATTIVA: VACCINI	51
7.1.2 ANTICORPI MONOCLONALI	54
7.2 IMMUNOTERAPIA BASATA SULLA PROTEINA TAU	69
7.2.1 IMMUNOTERAPIA ATTIVA: VACCINI	69
7.2.2 IMMUNOTERAPIA PASSIVA: ANTICORPI MONOCLONALI ANTI-TAU	71
7.3 ALTRI APPROCCI TERAPEUTICI	74
7.3.1 ESTRATTI NATURALI	74
7.3.2 LA MUSICA COME TERAPIA ALTERNATIVA:	75
<u>CAPITOLO 8: CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE</u>	<u>76</u>
8.1 LA PROSPETTIVA ITALIANA	79
8.2 UNO SGUARDO AL FUTURO: INTELLIGENZA ARTIFICIALE	79
<u>BIBLIOGRAFIA</u>	<u>81</u>

Non ricordo il tuo nome, ma so che sei una persona che amo.

(Malato di Alzheimer)

CAPITOLO 1: INTRODUZIONE ALLA MALATTIA DI ALZHEIMER

Alois Alzheimer fu uno psichiatra tedesco¹ all'apparenza sconosciuto, che ha portato alla luce quella che oggi è considerata una delle patologie più conosciute e diffuse al mondo.

Il morbo di Alzheimer, o AD (Alzheimer's disease), venne descritto a partire dal 1907 come un disturbo neurodegenerativo progressivo che rappresenta attualmente più del 75% dei casi di demenza senile¹.

Dato che l'Alzheimer è strettamente correlato all'età, in una società che continua ad invecchiare, il fenomeno rischia di assumere delle dimensioni inquietanti (Ministero della Salute, 2023), infatti la popolazione mondiale è in continua crescita, tanto che intorno al 2030 si avvicinerà ad 1 bilione di abitanti, con una percentuale di anzianità prevista al 12% (United Nations Organization, 2001) (The Centers for Disease Control and Prevention, 2003).

In tempi brevi questa patologia diventerà una delle sfide più rilevanti nell'immediato futuro per la sanità mondiale.

1.1 EPIDEMIOLOGIA

Al giorno d'oggi sono più di 55 milioni le persone al mondo che soffrono di demenza, dei quali oltre il 60% risiede nei Paesi sottosviluppati.

Si prospetta un aumento della cifra fino a 132 milioni di malati solo nel 2050, mentre la stima dei costi, che ricadrà inevitabilmente sui servizi sanitari, è prevista intorno ai 3 trilioni di dollari l'anno (Ministero della Salute, 2023).

L'incidenza annua è di 10 milioni di nuovi casi, circa 1 ogni 3 secondi (World Health Organization, 2023).

L'Organizzazione Mondiale della Sanità classifica l'Alzheimer come la settima causa di morte nel mondo, insieme ad altri tipi di demenza, con una disproporzione relativa alle donne di circa il 65% (World Health Organization, 2023).

Nei Paesi industrializzati infatti la prevalenza femminile è dell'8% per le ultrasessantacinquenni, mentre raddoppia intorno al 20% dopo gli ottanta anni.

Solo in Italia sono circa 600.000 le persone affette da Alzheimer con quasi 3 milioni di persone coinvolte nella loro assistenza economica, sociale e psicologica.

Per un individuo di settant'anni la durata della malattia include 10 anni per la fase preclinica, 4 anni per quella prodromica e 6 anni per lo stadio di demenza conclamato, per un totale di circa 20 anni².

Data la difficoltà di diagnosi precoce e la mancanza di biomarcatori diagnostici la mortalità, dopo la diagnosi, è stimata a sei anni nei Paesi europei³.

1.2 LE ORIGINI DELLA MALATTIA DI ALZHEIMER

La storia racconta che la prima paziente, nel 1907, fu una donna di 51 anni, Augustine Deter, che si trovava rinchiusa in un manicomio a Francoforte. Augustine presentava un comportamento totalmente differente rispetto alle malattie al tempo conosciute. Ben presto cominciò a perdere la memoria, cambiare rapidamente l'umore, risultando completamente disorientata nel tempo e nello spazio, non era più in grado di ricordare il nome del marito e la funzione degli oggetti, pronunciava male le parole, separava le sillabe e interrompeva le frasi. La sua memoria risultò seriamente danneggiata, ma la camminata e le mani reagivano correttamente, come le pupille, il riflesso patellare e il battito cardiaco.

Augustine morì dopo quattro anni e mezzo di malattia nel proprio letto dell'istituto, in posizione fetale e con pieghe da decupito, nonostante le cure.

Le analisi post-mortem riconducevano ad un'atrofia corticale generale in età presenile, con le cellule neuronali all'apparenza normali, ma ricche di grovigli neurofibrillari e placche⁴. Negli anni i casi aumentarono sempre di più spingendo i ricercatori verso enormi progressi¹.

1.3 CLASSIFICAZIONE DELLA MALATTIA DI ALZHEIMER

Secondo la classificazione ICD-10 dei disordini mentali e comportamentali l'Alzheimer fa parte di un gruppo di patologie cronico neurodegenerative caratterizzate da un esordio insidioso e un declino lento, ma progressivo⁵.

Si caratterizza per disordini cognitivi e comportamentali che conducono all'incapacità di svolgere le normali azioni quotidiane, nonché difficoltà di linguaggio e disturbi motori.

La tipica espressione di AD riguarda un graduale perdita della memoria a breve termine nel 86-94% dei pazienti⁶ per la progressiva perdita dei neuroni e delle sinapsi, nonché della plasticità neuronale⁷.

CAPITOLO 2: I MECCANISMI PATOGENETICI DELLA MALATTIA DI ALZHEIMER

La patogenesi dell'Alzheimer è un insieme di eventi (**Figura 1**) che accumulandosi tra loro ledono alle sinapsi determinando disfunzione sinaptica e perdita neuronale.

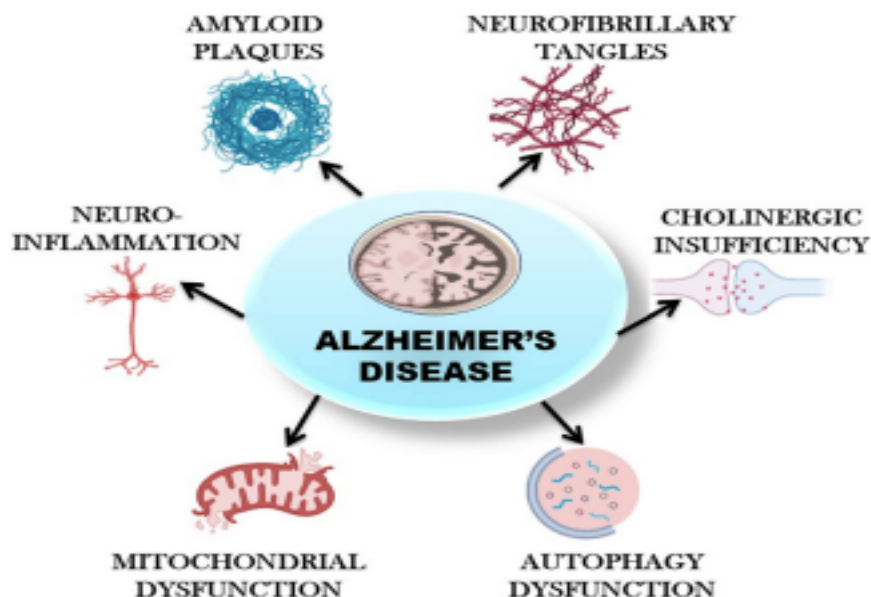


Figura 1 : Meccanismi fisiopatologici della malattia di Alzheimer⁸.

2.1 LE PLACCHE BETA-AMILOIDI:

La APP è la glicoproteina precursore della proteina beta-amiloide prodotta dai neuroni, dalle cellule vascolari e dalle cellule del sangue, incluse le piastrine⁹.

Il gene che codifica per la APP è localizzato nel cromosoma 21 e un alterato splicing alternativo produce 8-11 isoforme della proteina che differiscono per lunghezza aminoacidica⁹.

Prende parte al processo di trasduzione del segnale¹⁰, nonché alla promozione della crescita neuritica e il potenziamento delle sinapsi per aumentarne la trasmissione⁹.

Il clivaggio di tale proteina avviene ad opera di una famiglia di enzimi chiamate secretasi.

In condizioni fisiologiche (**Figura 2**) il taglio proteolitico è svolto dalle α -secretasi per formare un frammento peptidico solubile N-terminale (sAPP β)¹¹, rapidamente rilasciato all'esterno per essere rimosso, e un frammento C-terminale (CTF β). Quest'ultimo è successivamente degradato da una γ -secretasi generando la proteina beta-amiloide extracellulare.

Nell'Alzheimer l'omeostasi delle secretasi risulta disregolato, infatti la degradazione della APP avviene da parte degli enzimi BACE-1 (beta-secretasi-1), in grado di produrre il peptide beta-

amiloide⁹, tra cui il peptide di 42 amminoacidi ($A\beta_{42}$) e il peptide di 40 amminoacidi ($A\beta_{40}$), che differiscono per il numero di residui, due in più nella regione C-terminale¹².

Tale prodotto di degradazione, la beta-amiloide ($A\beta$) è anomalo e insolubile, quindi in grado di accumularsi in maniera concentrazione-dipendente¹³ sottoforma di oligomeri, protofibrille fino a formare aggregati fibrillari ed infine placche⁶.

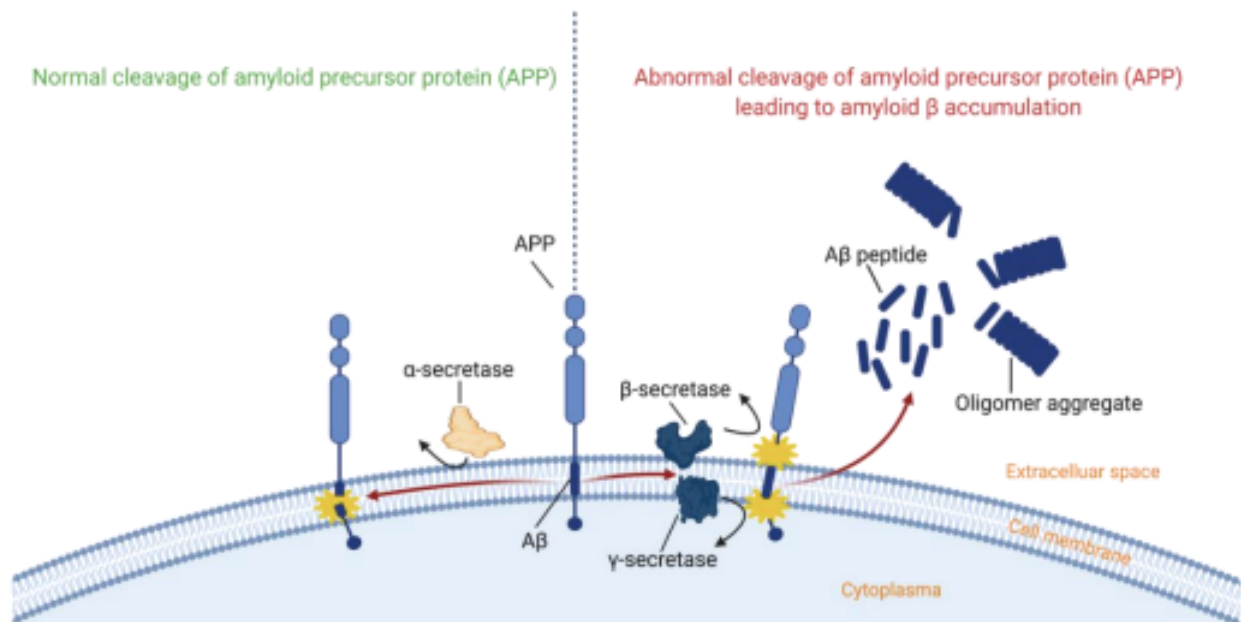


Figura 2: Meccanismo fisiologico e patologico di degradazione della APP¹⁴

Un'inefficace rimozione del peptide si pensa sia causa dei casi sporadici di AD, mentre in casi meno comuni è dovuta a mutazioni del gene APP, PSEN1 e PSEN2¹⁵.

Tuttavia bassi livelli del peptide beta-amiloide hanno un ruolo neuroprotettivo, antiossidante e sono in grado di regolare la plasticità sinaptica.

L'aggregazione dei peptidi beta-amiloide in dimeri, oligomeri ed infine placche risulta molto più difficile da eliminare anche ad opera del cambiamento di struttura da α -elica a β -sheet.

La neurotossicità delle placche di amiloidi (**Figura 3**) è dovuta alla disfunzione sinaptica, all'eccitotossicità, all'alterazione della permeabilità di membrana, all'alterata omeostasi del calcio, l'infiammazione e lo stress ossidativo¹⁶.

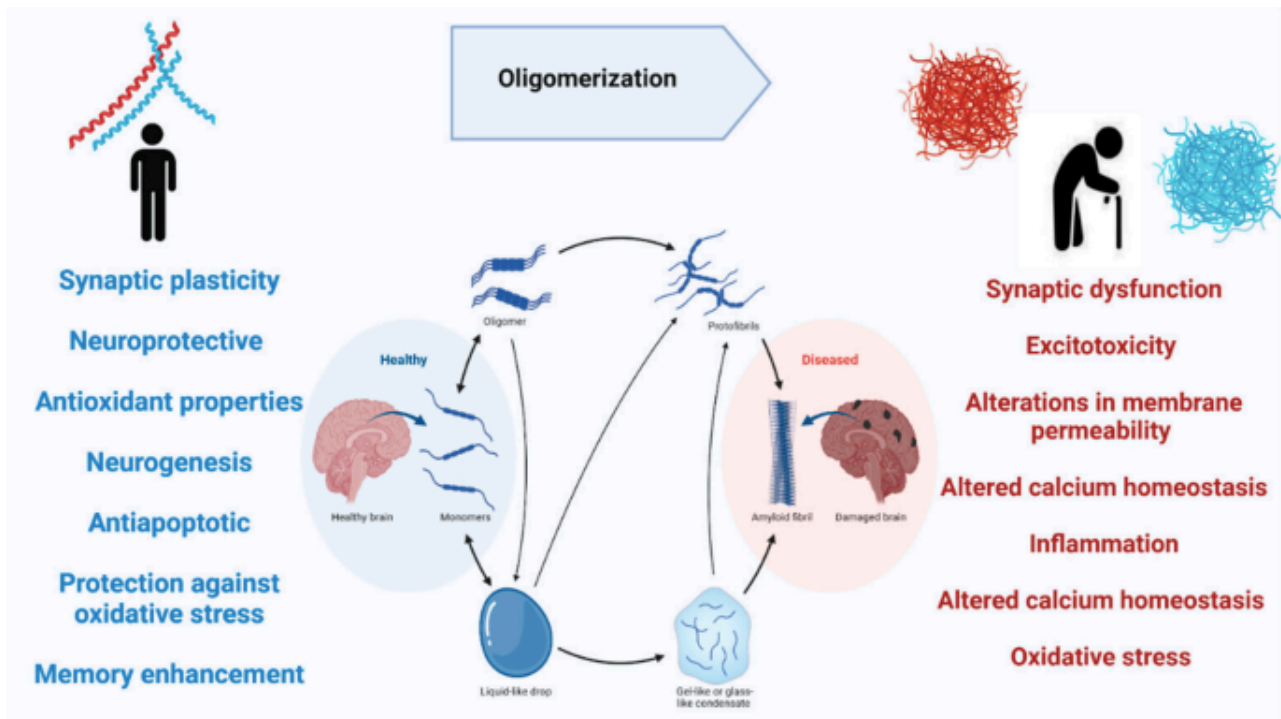


Figura 3 : Descrizione delle funzioni fisiologiche e patologiche dell'oligomerizzazione della proteina beta-amiloide⁹.

Ulteriori studi evidenziano come il peptide beta-amiloide sia interessato anche nella regolazione del colesterolo e nel metabolismo della sfingomielina, in quanto riduce l'attività della sfingomielinasi e della idrossi-metil-glutaril-CoA reductasi riducendo la biosintesi di colesterolo¹⁷.

La vicinanza delle placche di amiloidi alle sinapsi è responsabile della perdita sinaptica e della disfunzione sinaptica, a causa dell'influenza negativa sulla plasticità sinaptica e sul traffico vescicolare¹⁸.

Inoltre il peptide beta-amiloide è in grado di accumularsi a livello della membrana mitocondriale bloccando la catena respiratoria, interrompendo il trasporto di proteine mitocondriali, danneggiando i mitocondri, aumentando i ROS (specie reattive dell'ossigeno) e interrompendo la funzionalità dei neuroni¹⁹.

Infine prende parte alla neurotrasmissione glutammatergica (**Figura 4**) alterando sia il meccanismo presinaptico sia postsinaptico²⁰.

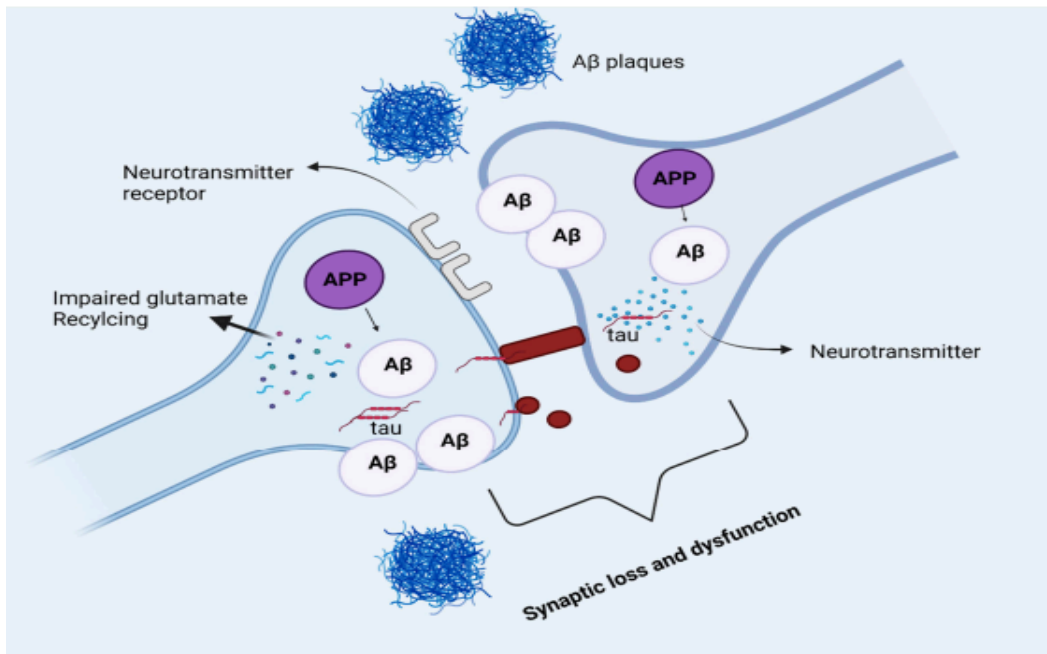


Figura 4 : Rappresentazione della disfunzione sinaptica indotta dalla proteina beta-amiloide⁹.

2.2 LA PROTEINA TAU

La proteina tau è una proteina associata ai microtubuli (MAPT) e risulta essere la proteina più abbondantemente espressa nel citoplasma dell'assone dei neuroni del sistema nervoso centrale, oltre che nei compartimenti presinaptici e postsinaptici²¹.

La sua funzione è l'assemblamento e la stabilizzazione dei microtubuli del citoscheletro cellulare^{22,23}. È suddivisibile in 4 domini: la porzione N-terminale, il dominio ricco in prolina, il dominio di legame ai microtubuli (MBD) e la regione C-terminale²⁴.

Splicing alternativo nella regione N-terminale e nel MBD generano sei diverse isoforme²⁴, delle quali 3R e 4R sono tipiche delle forme di AD.

Inoltre, la proteina Tau, subisce alcune modificazioni post-traduzionali, tra cui la fosforilazione e la O-glicosilazione²⁵, che sono responsabili del cambiamento della sua conformazione, nonché dell'attività.

La forma iperfosforilata rende la proteina aberrante, quindi in grado di aggregarsi e accumularsi in grovigli neurofibrillari²⁴; tale processo è lo step cruciale per l'innescò della formazione della malattia che inizia molti anni prima dei sintomi clinici.

L'evoluzione della conformazione di Tau (**Figura 5**) riflette il naturale decorso della malattia: (1) la fase pre-grovigli dove la proteina iperfosforilata comincia a depositarsi nei compartimenti somatodentrici, (2) la proteina acquisisce una nuova conformazione a doppia elica (PHF, *paired helical filament*) con dislocamento del nucleo in periferia, ed infine (3) i grovigli neurofibrillari

extracellulari (NFTs, *neurofibrillary tangles*) acquisiscono la capacità di resistere parzialmente alla proteolisi²⁶.

La vicinanza di tali grovigli ai neuroni è causa di perdita del citoscheletro dei microtubuli e delle proteine ad essi associate²⁶, tuttavia rimane sconosciuto il motivo per cui i neuroni siano suscettibili all'errato ripiegamento di Tau e dei suoi aggregati²¹.

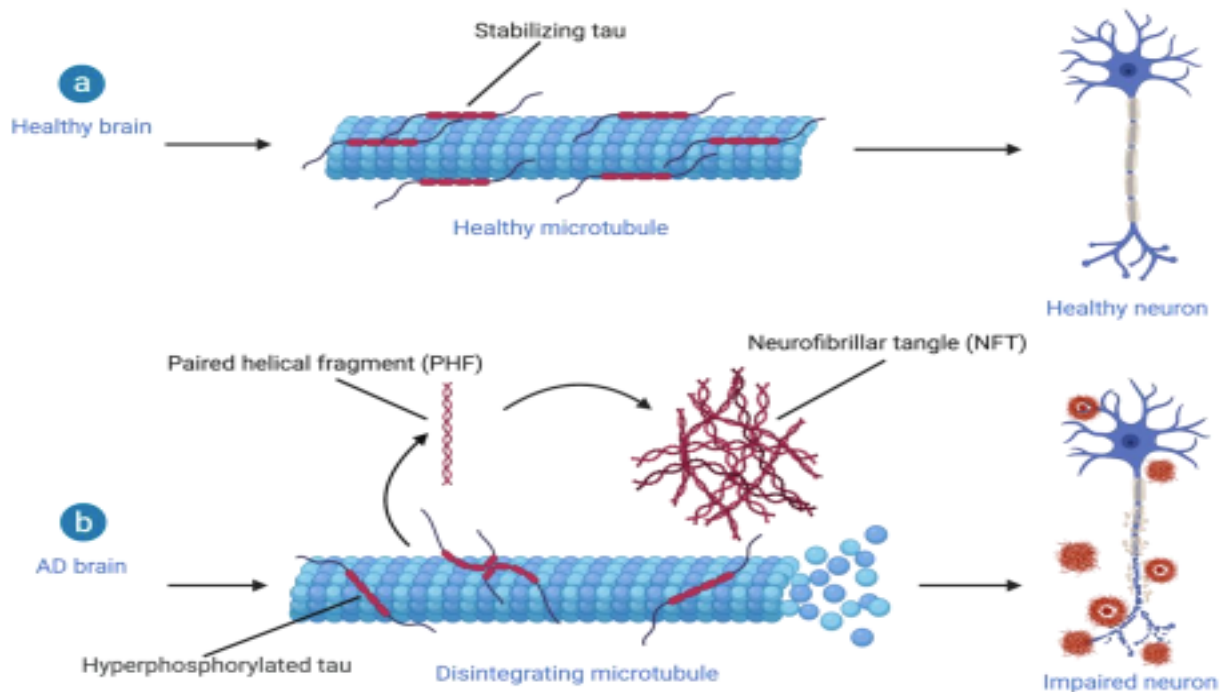


Figura 5 : Meccanismo fisiologico (a) e patologico (b) della proteina Tau¹⁴.

2.3 AUTOFAGIA

L'autofagia (**Figura 6**) rappresenta uno dei principali meccanismi di rimozione di proteine e organelli danneggiati attraverso la produzione di ROS (specie reattive dell'ossigeno) ed enzimi proteolitici nei lisosomi²⁷.

È caratterizzata da tre forme prevalenti: microautofagia, autofagia mediata dalle chaperonine e macroautofagia, differendo in base al modo con cui il target viene trasportato all'interno dei lisosomi^{28,29}.

Il processo selettivo o non selettivo dipende dal bersaglio da rimuovere, che può essere uno specifico componente o un'intera cellula³⁰.

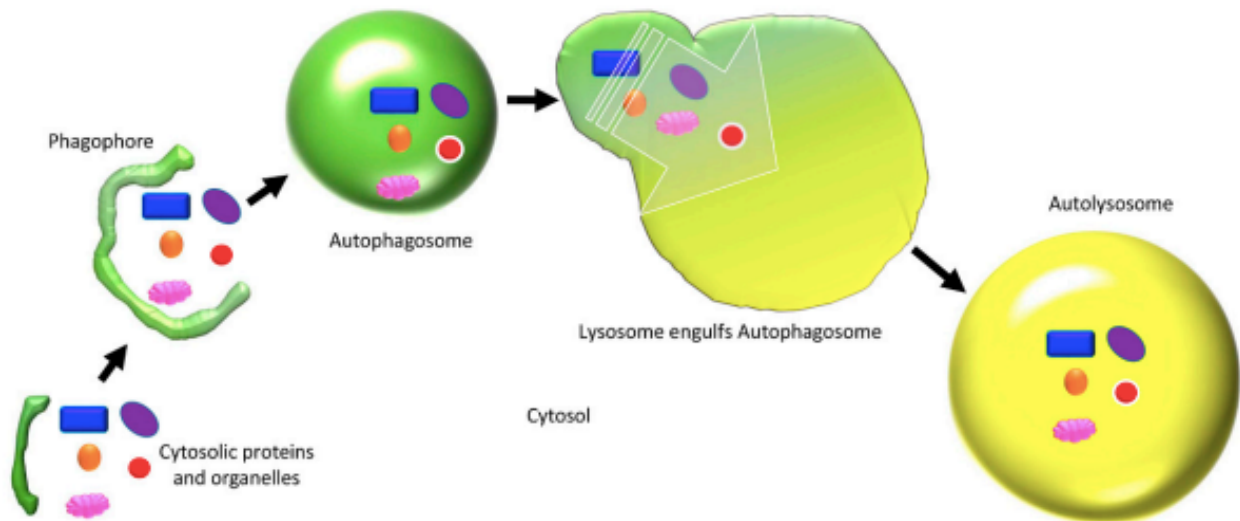


Figura 6 : Tappe del processo autofagico³¹.

Ci sono evidenze per cui il processo autofagico si riduce con l'età e si aggrava nello stato patologico di AD³².

Nella malattia di Alzheimer i diversi tipi di vacuoli autofagici (AVs), come gli autofagosomi e gli autolisosomi, si accumulano nelle cellule, soprattutto nei neuroni.

Disfunzioni nella capacità autofagica favoriscono l'accumulo di proteine aberranti e malfunzionanti, tra cui la beta-amiloide, la proteina Tau e i mitocondri danneggiati³¹.

Modelli animali confermano il fatto che mutazioni di alcuni geni implicati nel processo autofagico siano in grado di modulare negativamente la formazione degli autofagosomi e indurre neurodegenerazione²⁹.

2.4 NEUROINFIAMMAZIONE: IL RUOLO DELLA MICROGLIA

La microglia è formata da macrofagi residenti che originano nel mesoderma per poi migrare al SNC (sistema nervoso centrale) durante il loro sviluppo³³.

Rappresentano circa il 5-10% delle cellule gliali e svolgono un ruolo importante nella protezione dell'omeostasi cerebrale, rappresentando la prima linea di difesa contro insulti nocivi o patogeni.

Sono cellule deputate al controllo del numero di neuroni e dell'immunità innata³³.

La presenza di numerosi recettori sulla loro superficie cellulare, come i *Toll-Like receptors* (TLRs) o il recettore del complemento, consente loro di legare molte molecole attivandosi nel fenotipo M1 o M2 (**Figura 7**) a seconda dello stimolo cerebrale, come la beta-amiloide, il lipopolisaccaride o i pesticidi³⁴.

Il fenotipo M1 è proinfiammatorio perché media il rilascio di molti fattori proinfiammatori come numerose interleuchine (IL-1, IL-12, IL-17), chemochine, specie reattive dell'ossigeno (ROS), ossido nitrico sintasi (NOS) e le cicloossigenasi-2 (COX-2), mentre il fenotipo M2 insorge in presenza di danno tissutale rilasciando mediatori neuroprotettivi quali interleuchina-4 (IL-4) e il fattore di crescita trasformante beta (TGF- β)³⁴.

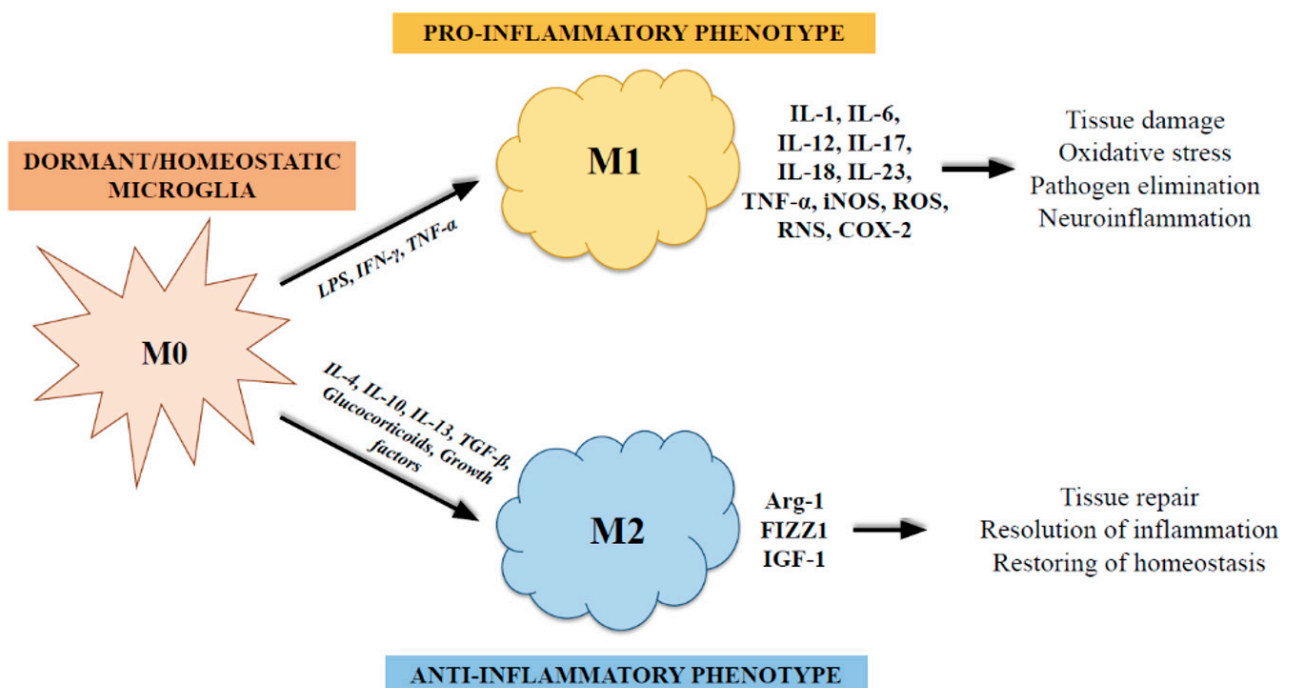


Figura 7 : Il fenotipo della microglia³⁴

Tuttavia l'attivazione cronica della microglia nello stato M1 comporta un eccesso nella produzione dei mediatori proinfiammatori contribuendo alla patogenesi dei disturbi neurodegenerativi.

Infatti nella fase preclinica della malattia la microglia svolge azioni protettive nello sviluppo di AD, in quanto mantiene l'equilibrio tra produzione e clearance di amiloide, riduce l'iperfosforilazione di Tau ritardando l'esordio di malattia³⁵.

Tuttavia quando il decorso si aggrava e il carico di amiloide aumenta, la risposta della microglia cambia.

Infatti il peptide beta-amiloide riconoscendo specifici recettori cellulari sulle cellule microgliali, come TREM2 (recettore di attivazione espresso sulle cellule mieloidi 2), TLRs (Toll-Like receptors) e CD36, può indurre l'attivazione permanente della microglia inducendo infiammazione neuronale, che riduce i sistemi di clearance degli aggregati di beta-amiloide³⁴.

Inoltre è stato suggerito che l'iperproduzione di tale peptide dai neuroni sia in grado di stimolare fattori di trascrizione come NF-kB negli astrociti innescando l'espressione del sistema del

complemento C3 e tutta una serie di reazioni avverse che si riversano sui neuroni e sulla microglia, determinando danno neuronale e attivazione dei macrofagi M1³⁶.

In presenza di placche amiloidee le cellule microgliali (**Figura 8**) si accumulano intorno ad esse rilasciando ulteriori fattori infiammatori esacerbando la neurotossicità³³.

Per tale motivo la microglia risulta protettiva solo nella fase preclinica dell'Alzheimer, diventando neurotossica in fase clinica.

Al tempo stesso l'accumulo di proteina Tau precede l'attivazione della microglia, dimostrando come la sua attivazione aggravi la malattia. Inoltre la produzione di interleuchine, quali IL-1 e IL-6, generate nello stato M1 inducono iperfosforilazione di Tau favorendo la formazione dei grovigli neurofibrillari³⁴.

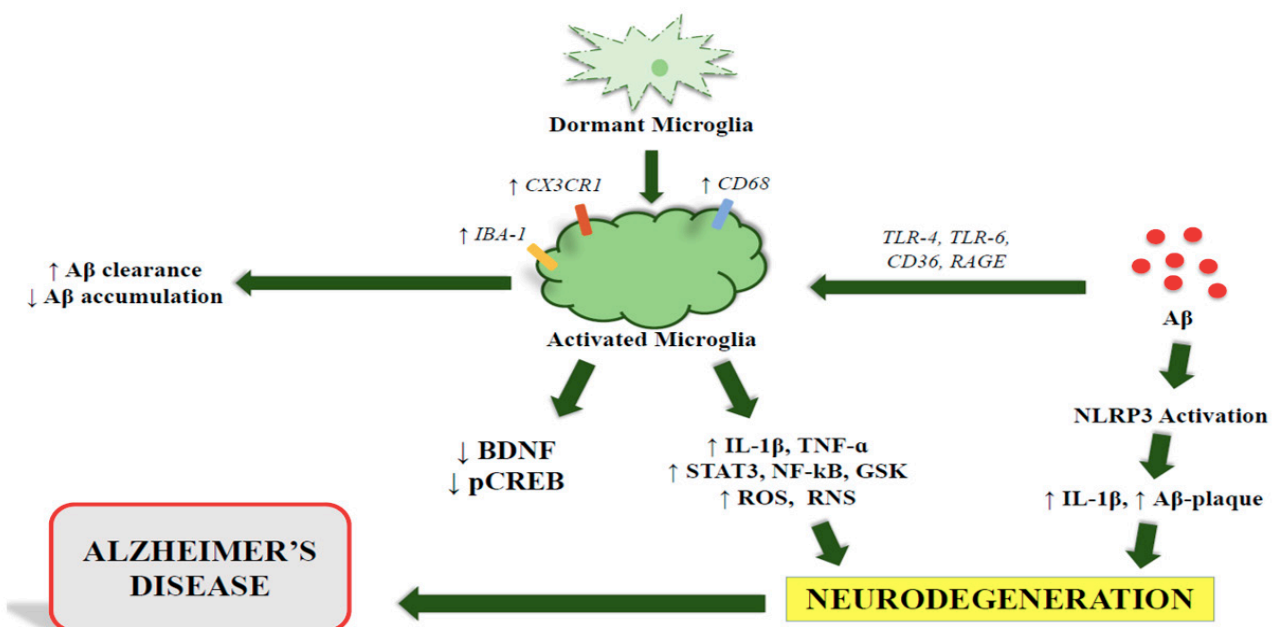


Figura 8 : Fattori coinvolti nell'attivazione della microglia e induttori di danno neuronale³⁴

Per la valutazione del danno neuronale indotto dall'iperattivazione cronica della microglia si indaga la proteina TSPO, un recettore traslocatore espresso sulla membrana mitocondriale delle microglia, che risulta iper-espresso in condizioni infiammatorie³⁷.

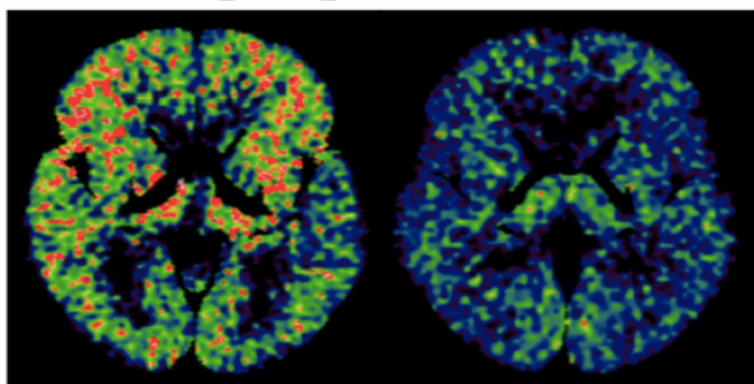
TSPO rappresenta un ottimo biomarcatore di danno cerebrale microglia-indotto.

Un tipico tracciante PET per TSPO è rappresentato dalla molecola (¹¹C)-PBR28³⁷.

La figura sottostante mostra come un aumento del segnale per lo più nella regione fronto-temporale³⁸, quindi dell'uptake di tracciante, sia correlato ad un peggioramento dei sintomi clinici, quindi un maggiore stato neuroinfiammatorio (**Figura 9**).

Tuttavia non si conosce esattamente lo stimolo patologico per l'aumento di TSPO nei pazienti di Alzheimer.

[¹¹C]PBR28



Alzheimer's
disease

Healthy
control

Figura 9 : PET imaging con ¹¹C-PBR28 mostrano un aumentato legame del tracciante in soggetti malati comparati a soggetti sani.³⁷.

2.5 DISFUNZIONE MITOCONDRIALE E STRESS OSSIDATIVO

I mitocondri sono organelli metabolicamente attivi presenti nelle cellule.

Nella malattia di Alzheimer i mitocondri risultano alterati in numero, nel trasporto e nella morfologia³⁹.

Il meccanismo con cui gli aggregati di beta-amiloide attaccano i mitocondri non è del tutto chiaro, tuttavia si accumulano nei lumen intracellulare alterandone la struttura e riducendone la funzionalità respiratoria per ridotta capacità di produrre ATP⁴⁰.

Inoltre sembra che la beta-amiloide interagisca con l'alcol deidrogenasi promuovendo la formazione di radicali liberi, l'apoptosi e il danno alla struttura mitocondriale⁴¹.

Al tempo stesso i mitocondri rappresentano la sorgente primaria di ROS (specie reattive dell'ossigeno) intracellulare in quanto donano substrato alle sinapsi ad elevata attività metabolica⁴⁰.

Infatti i neuroni sono altamente dipendenti dai mitocondri, che si accumulano in prossimità delle sinapsi aiutando e offrendo loro energia metabolica in relazione alla domanda³⁹.

Gli elevati livelli di ROS che si sviluppano in relazione all'attività sinaptica associato ai ridotti sistemi enzimatici antiossidanti, sono responsabili del danno ossidativo delle sinapsi, nonché di perossidazione lipidica, ossidazione delle proteine e del DNA⁴².

Se la disfunzione mitocondriale è grave può provocare morte cellulare per apoptosi o necrosi con perdita delle sinapsi.

La FDG-PET (la tomografia ad emissione di positroni tramite fluoro-desossiglucosio) è in grado di individuare condizioni di ipometabolismo energetico in MCI (*Mild cognitive impairment*) o AD, che appare prima del deficit di memoria.

2.6 IPOTESI COLINERGICA

L'Acetilcolina (ACh) è il più importante neurotrasmettitore del sistema colinergico coinvolto in molti processi fisiologici, quali l'attenzione, la memoria e l'apprendimento⁴³. Inoltre gioca un ruolo chiave nella plasticità neuronale e nella sopravvivenza cellulare nel SNC, nella neurogenesi e nel differenziamento neuronale⁴⁴.

Viene sintetizzata nel citoplasma dei neuroni colinergici a partire da colina, AcetilCoA e ATP, tramite l'enzima colina Acetil-transferasi⁴⁵ e successivamente impacchettata in vescicole presinaptiche.

A seguito di uno stimolo nervoso tali vescicole si legano e si fondono con la membrana presinaptica rilasciando ACh per esocitosi.

L'acetilcolina è libera di legare i recettori post-sinaptici, muscarinici e nicotinici, per espletare le sue funzioni nelle fibre nervose o nelle fibre muscolari⁴⁶.

La degradazione dell'Acetilcolina avviene ad opera dell'enzima acetilcolinesterasi (AChE) che interrompe l'impulso nervoso ripristinando la colina per essere riutilizzata⁴⁷.

Se quest'ultima non viene degradata, si riduce l'up-take presinaptico di colina che non può più essere riutilizzata causando un deficit nella sintesi di acetilcolina.

Nell'Alzheimer il declino cognitivo associato all'atrofia dei neuroni colinergici risulta accelerato, con relativo danno cognitivo e perdita della memoria⁴⁴.

L'ipotesi è legata al fatto che le placche beta-amiloidi, localizzate nelle regioni ricche di neuroni colinergici, siano neurotossiche ed in grado di interagire con l'enzima acetilcolinesterasi (AChE) riducendo la degradazione di acetilcolina. Inoltre la beta-amiloide lega con alta affinità i recettori $\alpha 7$ -nicotinici⁴⁴ alterandone la funzione.

Infine la APP media la disfunzione del processo di endocitosi di acetilcolina inducendo ulteriore disfunzione neuronale e neurodegenerazione.

2.7 IPOTESI GLUTAMMATERGICA

Il glutammato è un importante neurotrasmettitore eccitatorio del sistema nervoso, nonché ligando di recettori NMDA (N-metil-D-aspartato) che giocano un ruolo fondamentale nella plasticità sinaptica, nella memoria e nell'apprendimento⁴⁸.

Il recettore NMDA è un canale ionico regolato dal voltaggio e bloccato dal Mg^{2+} . In presenza del segnale depolarizzante, il Mg^{2+} si sposta, consentendo l'apertura del canale e il passaggio di ioni calcio⁴⁹.

Durante il LTP, *long term potentiation o potenziamento a lungo termine*, il forte e prolungato rilascio di glutammato dalle terminazioni presinaptiche attiva il recettore AMPA (α -ammino-3-idrossi-5-metil-4-isossazolo-propionico) e la conseguente depolarizzazione rimuove il blocco Mg^{2+} dai canali NMDAR permettendo l'influsso di calcio, risultando nell'innescare a cascata di eventi calcio-mediati⁴⁹. Clinicamente è stato osservato che l'iperattivazione di tali recettori, dovuto ad un eccesso di glutammato, determina un incontrollato influsso di ioni calcio nei neuroni e nelle cellule gliali determinando eccitotossicità e morte neuronale⁵⁰. Anche l'accumulo di beta-amiloide sembra in grado di influenzare l'attivazione dei recettori NMDA nelle fasi iniziali della malattia⁵¹.

CAPITOLO 3 : ASPETTI CLINICI

3.1 PATTERN TOPOGRAFICO : DOVE SI SVILUPPA

La patologia di Alzheimer si sviluppa in specifiche aree cerebrali (**Figura 10**), infatti i primi cambiamenti evidenti colpiscono il lobo mediale e temporale, l'ippocampo, la corteccia entorinale e peririnale⁵².

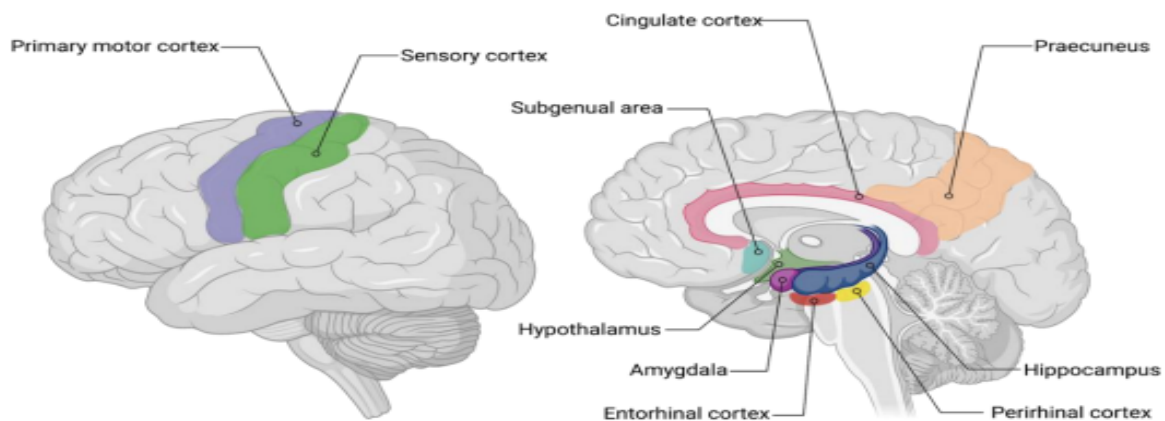


Figura 10 : Aree cerebrali interessate dalla patologia¹⁴.

Il tipico pattern della malattia (**Figura 11**) potrebbe risultare di particolare rilevanza dal punto di vista clinico per la diagnosi precoce, sfruttando l'utilizzo di specifiche tecniche diagnostiche per immagine.

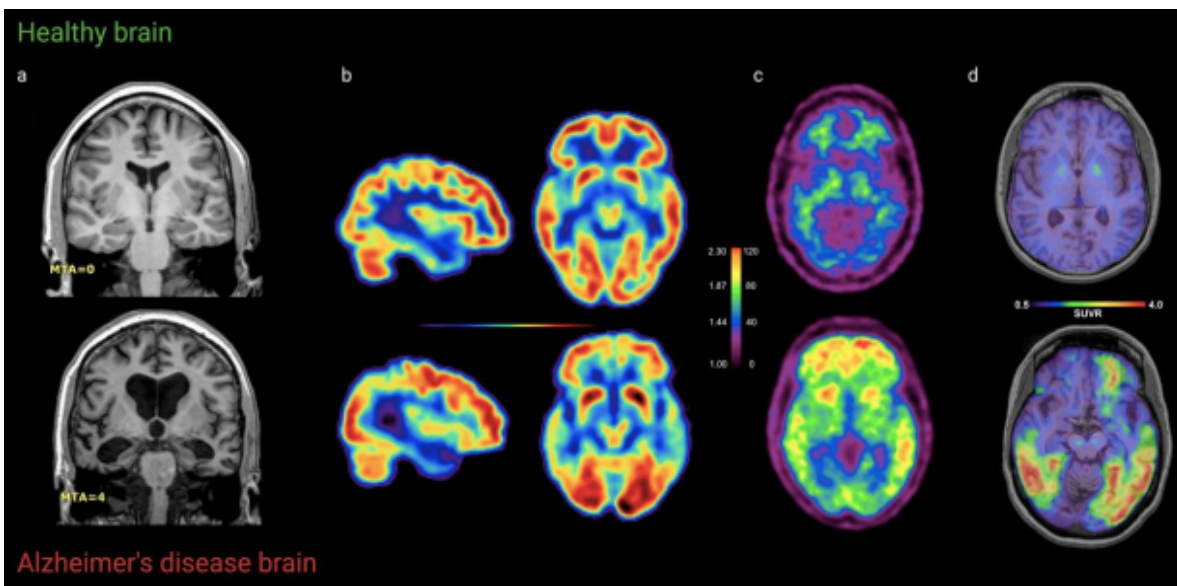


Figura 11 : Neuroimmagini di un cervello sano e un cervello con Alzheimer. a) MRI, b) FDG-PET, c) Amiloide PET con 11C-PiB, d) Tau PET con ¹⁸F-AV1451¹⁴.

3.1.1 Risonanza magnetica per immagine

La risonanza magnetica per immagine, MRI, è una tecnica sicura e non invasiva che sfrutta l'utilizzo di radiazioni non ionizzanti per valutare l'atrofia ippocampale, che risulta strettamente correlata con il declino cognitivo, quindi utile per valutare la progressione della malattia¹⁴.

La valutazione della riduzione dello spessore di alcune aree cerebrali (**Figura 12**), quali le regioni temporale, orbitofrontale e parietale⁵³, viene considerata un precoce biomarcatore di AD.

Tuttavia la riduzione del volume cerebrale non è una misura AD-specifica⁵⁴.

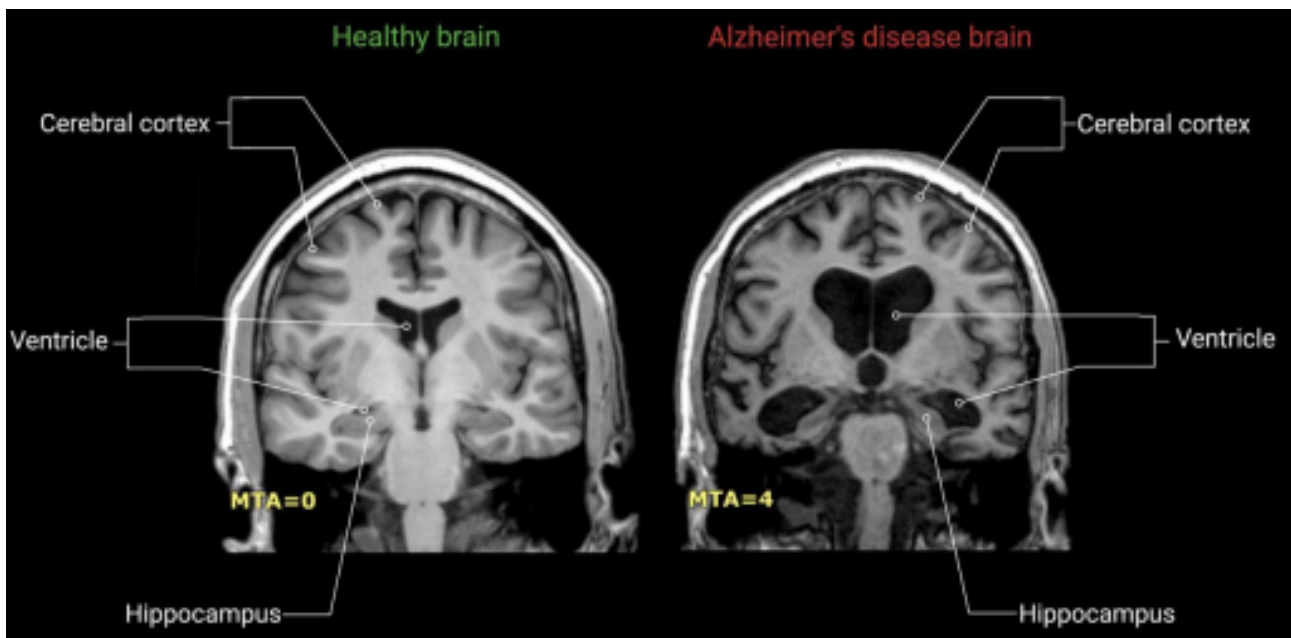


Figura 12 : Cervello con atrofia ippocampale e allargamento dei ventricoli in soggetti AD (*destra*). MTA: atrofia del lobo temporale-mediale; MTA=0 no atrofia; MTA=4 severa perdita di volume ippocampale¹⁴.

3.1.2 Fluorodeossiglucosio-PET

Con la fluorodeossiglucosio-PET, o FDG-PET, è possibile misurare la quota metabolica cerebrale di glucosio come indicatore di attività neuronale, senza indicazioni circa l'attività cognitiva^{55,56}.

Viene sfruttato l'uptake di un agente radiomarcato, analogo del glucosio, che risulta essere correlato alla neurodegenerazione, quindi in grado di rivelare dei cambiamenti solo quando la perdita neuronale è già avvenuta⁵⁷.

L'ipometabolismo è normalmente associato all'età, tuttavia si verifica un aggravamento durante la malattia nelle aree temporoparietali, incluso il cingolato^{14,55}. Non vengono intaccati la corteccia motoria e sensoriale.

FDG-PET è un sensibile indicatore di AD in grado di distinguere i vari tipi di demenza con oltre il 95% di precisione⁵⁸.

Viene poco sfruttato dal punto di vista clinico in quanto richiede un'iniezione intravenosa di un agente radiomarcato, quindi risulta invasivo, inoltre un ridotto metabolismo di glucosio è indice anche di numerose altre malattie¹⁴.

3.1.3 Amiloide-PET

Amiloide-PET è il gold standard per l'imaging di beta-amiloide cerebrale nell'area corticale¹⁴, sfruttato per lo stadio moderato della malattia. Inoltre è una tecnica in grado di distinguere i differenti tipi di demenza e il diverso stadio della patologia (**Figura 13**).

Ad oggi si ritiene che il carico di beta-amiloide preceda il declino cognitivo, ed una volta raggiunta la condizione di plateau, la malattia si aggravi.

¹¹C-PiB è un tracciante molto utilizzato, che a livello molecolare è in grado di legare le fibrille insolubili di amiloide⁵⁹, nello specifico il peptide 42.

Tuttavia la breve emivita di 20 minuti e la tendenza a legare con alta affinità solo la forma fibrillare ne limitano l'utilizzo.

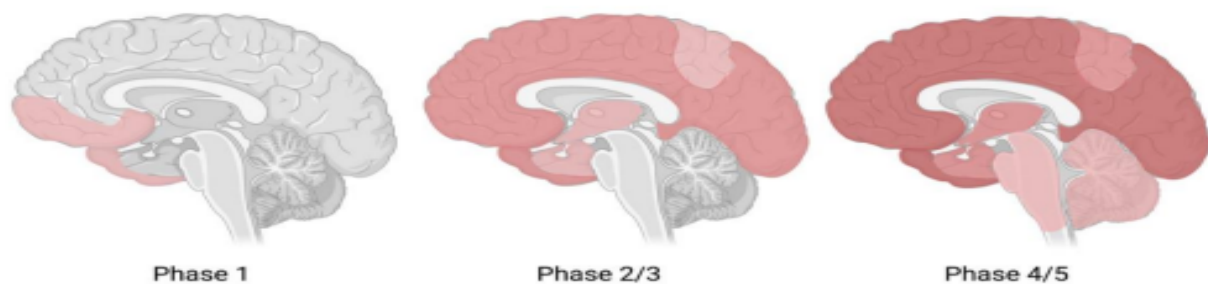


Figura 13 : Diffusione dell'accumulo di beta-amiloide nel cervello a partire dell'area frontale¹⁴.

3.1.4 Tau-PET

La Tau-PET consente di rilevare la diffusione dei grovigli neurofibrillari di proteina Tau durante la progressione della malattia (**Figura 14**), prima nella corteccia entorinale, poi nel sistema limbico e isocorticale⁶⁰.

Sono stati individuati 4 gruppi di traccianti, tra cui ¹⁸F-FDDNP, i derivati quinolinici, i derivati pidiroindolici e PBB3^{60,61}.

Tuttavia sono numerosi gli ostacoli che tali traccianti devono superare, tra cui la barriera emato-encefalica, la barriera intracellulare, la rapida clearance e l'alta sensibilità⁶².

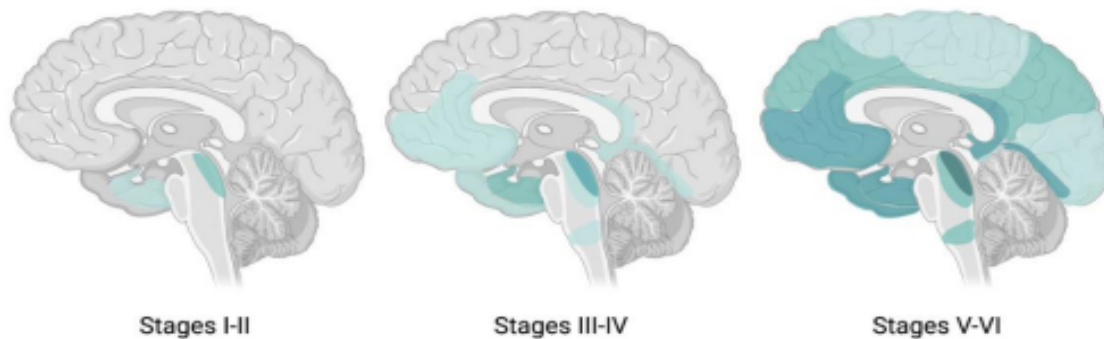


Figura 14 : Diffusione della proteina Tau durante gli stadi della malattia¹⁴.

3.2 CRITERI CLINICO-DIAGNOSTICI

Nel 1984 il *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke* (NINCDS) e l'*Alzheimer Disease and Related Disorders Association* (ADRDA) stabilirono la prima classificazione relativa ai criteri da utilizzare in diagnostica clinica per i malati di Alzheimer, con l'obiettivo di escludere altri tipi di demenze e giungere al riconoscimento della malattia al momento della sua manifestazione clinica conclamata⁶³.

- 1) Probabile Alzheimer: i sintomi cominciano a svilupparsi in una fascia di età tra i 40 e i 90 anni, senza lo sviluppo di disturbi sistemici o cerebrali. La diagnosi di demenza viene confermata da test neuropsicologici, dalla progressiva perdita di memoria, dall'incapacità di svolgere le normali azioni quotidiane e da sintomi quali afasia, aprassia e agnosia.
- 2) Possibile Alzheimer: è la condizione in cui non sono manifesti disturbi neurologici o psichiatrici, ma sono presenti malattie sistemiche o disfunzioni cerebrali, i quali però non rappresentano la causa primaria di AD.
- 3) Alzheimer conclamato: confermato da evidenti segni istopatologici a seguito di biopsia o autopsia⁶⁴.

Nel corso degli anni questi criteri sono stati rivisti a seguito dell'individuazione di nuovi marcatori biologici e con il progresso nella conoscenza dei meccanismi patologici alla base del processo neurodegenerativo.

Ad oggi le linee guida identificano i biomarcatori in due categorie: correlati al deposito di amiloide o relativi al danno neuronale, in grado di fornire informazioni circa l'evoluzione della patologia.

Tuttavia l'ampia scala di biomarcatori di AD è limitata da numerosi fattori, quali la scarsa riproducibilità delle metodiche, il costo eccessivo, la difficoltà di reperire dati in soggetti anziani, la comorbidità, le "demenze miste" e la non prevedibilità della comparsa di manifestazioni cliniche nel tempo^{65,66}.

3.3 CAMBIAMENTI NEUROPATOLOGICI NELL'ALZHEIMER

In linea generale i cambiamenti neuropatologici che contraddistinguono la demenza sono le cosiddette lesioni positive e lesioni negative.

Per lesioni positive si intendono le caratteristiche anatomopatologiche legate all'accumulo di materia, ovvero la presenza di grovigli neurofibrillari di proteina Tau iperfosforilata e le placche beta-amiloide in molte aree cerebrali.

Le lesioni negative sono rappresentate dalla perdita di materia, ovvero atrofia a livello della corteccia cerebrale e dell'ippocampo con conseguente perdita sinaptica e morte neuronale.

3.4 PLACCHE SENILI BETA-AMILOIDI

Le placche sono depositi extracellulari della proteina beta-amiloide presenti nella corteccia cerebrale, nell'ippocampo e nell'amigdala¹⁴.

Tali depositi di amiloide giocano un ruolo importante nella neurotossicità e nelle funzioni cerebrali, in quanto possono interagire con numerosi recettori glutammatergici, nicotinici nonché con il recettore per l'insulina.

Si formano per la degradazione della APP ad opera delle β -secretasi e γ -secretasi formando beta-amiloide, che si accumula sotto forma di oligomeri, fibrille ed infine placche⁹.

La disregolazione dei livelli di amiloide sembra dovuto allo squilibrio tra la produzione e la rimozione di tali peptidi e rappresentano un vero e proprio segno caratteristico della malattia⁹.

3.5 GROVIGLI NEUROFIBRILLARI

NTFs (*Neurofibrillary tangles*) sono un ulteriore segno distintivo di Alzheimer²⁶, di cui la proteina tau associata ai microtubuli, MAPT, è la principale componente.

Durante la malattia, MAPT subisce delle modifiche post-traduzionali in grado di renderla iperfosforilata e a doppia elica (PHF), quindi maggiormente prona ad aggregarsi in grovigli insolubili extracellulari²⁴.

3.6 PERDITA SINAPTICA

La formazione, maturazione ed eliminazione delle sinapsi rappresentano una serie di eventi che garantiscono la plasticità sinaptica.

Tale fenomeno viene garantito dal *long-term-potential* (LTP) e dalla *long-term-depression* (LTD), attraverso le quali il segnale da parte delle sinapsi può essere aumentato o ridotto⁶⁷.

LTP è considerato un meccanismo protettivo, attraverso l'aggiunta di nuovi recettori sulla membrana post-sinaptica, può garantire una forte trasmissione del segnale, mentre LTD induce l'eliminazione dei recettori non funzionali⁶⁸.

Sono due meccanismi considerati alla base del processo di formazione della memoria, di conseguenza è necessario l'equilibrio fra le due parti.

Un'alterazione di tale equilibrio è in grado di indurre disfunzione sinaptica e danno neuronale⁶⁹, risultando strettamente correlata coi sintomi cognitivi⁷⁰ che si verificano negli stati iniziali dell'Alzheimer⁷¹.

Anche durante l'invecchiamento il numero di sinapsi nel cervello si riduce, ma la riduzione è esacerbata durante la malattia, per lo più a livello delle regioni neocorticali e dell'ippocampo⁶⁷.

Come detto precedentemente, la presenza in eccesso di proteina Tau e di depositi di beta-amiloide nei pressi delle sinapsi espletano una funzione neurotossica. Inoltre gli oligomeri possono interrompere la LTP, interferendo con i recettori NMDA ed AMPA, in aggiunta all'elevato stress ossidativo, alla disfunzione mitocondriale e al danno nel trasporto assonale⁷².

Di conseguenza sono stati individuati marcatori sinaptici (**Figura 15**) in grado di riflettere l'andamento dello status cognitivo e della funzionalità sinaptica, in quanto alcune proteine nel CSF (fluido cerebro-spinale) possono riflettere differenti meccanismi alla base delle malattie, aiutando la diagnosi.

La neurogranina (Ng) è una proteina intracellulare concentrata nel compartimento post-sinaptico della spina sinaptica dei neuroni di molte aree cerebrali, tra cui l'ipotalamo e l'amigdala⁷³.

La proteina Ng lega e regola i livelli di calmodulina in risposta all'influsso di calcio intracellulare.

Durante la malattia i livelli di neurogranina risultano notevolmente aumentati rispetto ai controlli⁷⁴, rappresentando un utile biomarcatore nel CSF in grado di rilevare la degenerazione precoce dei neuroni, abbastanza specifico per l'Alzheimer.

Differentemente dai livelli di Ng nel plasma che non sono informativi.

La sinaptotagmina-1 è una proteina vescicolare pre-sinaptica sensibile al calcio utile per il rilascio simultaneo di neurotrasmettitori dai neuroni dell'ippocampo⁷⁵.

È una proteina transmembrana ancorata alla membrana delle vescicole contenenti 2 domini di legame per il calcio.

In risposta all'influsso di ioni calcio, la proteina innesca la fusione delle vescicole⁷⁵ nella membrana pre-sinaptica, consentendo il rilascio di neurotrasmettitori nello spazio sinaptico.

Aumentati livelli di sinaptotagmina-1 nel CSF⁶⁷ dei pazienti è in grado di prevedere casi precocemente l'AD.

SNAP-25 è una proteina pre-sinaptica con un ruolo chiave nella sopravvivenza neuronale e nelle funzioni cognitive dovuta alla sua attività nell'esocitosi vescicolare, alla crescita neuritica e alla LTP⁶⁷.

Insieme alle proteine VAMPs (proteine di membrana associate alle vescicole) e le sintassine, forma il complesso SNARE, che media la corretta posizione delle vescicole sinaptiche nella membrana presinaptica così da permettere l'esocitosi dei neurotrasmettitori a seguito dell'ingresso di calcio⁷⁶.

È un utile biomarcatore di danno sinaptico perché risulta significativamente aumentata nel fluido cerebro-spinale dei pazienti AD.

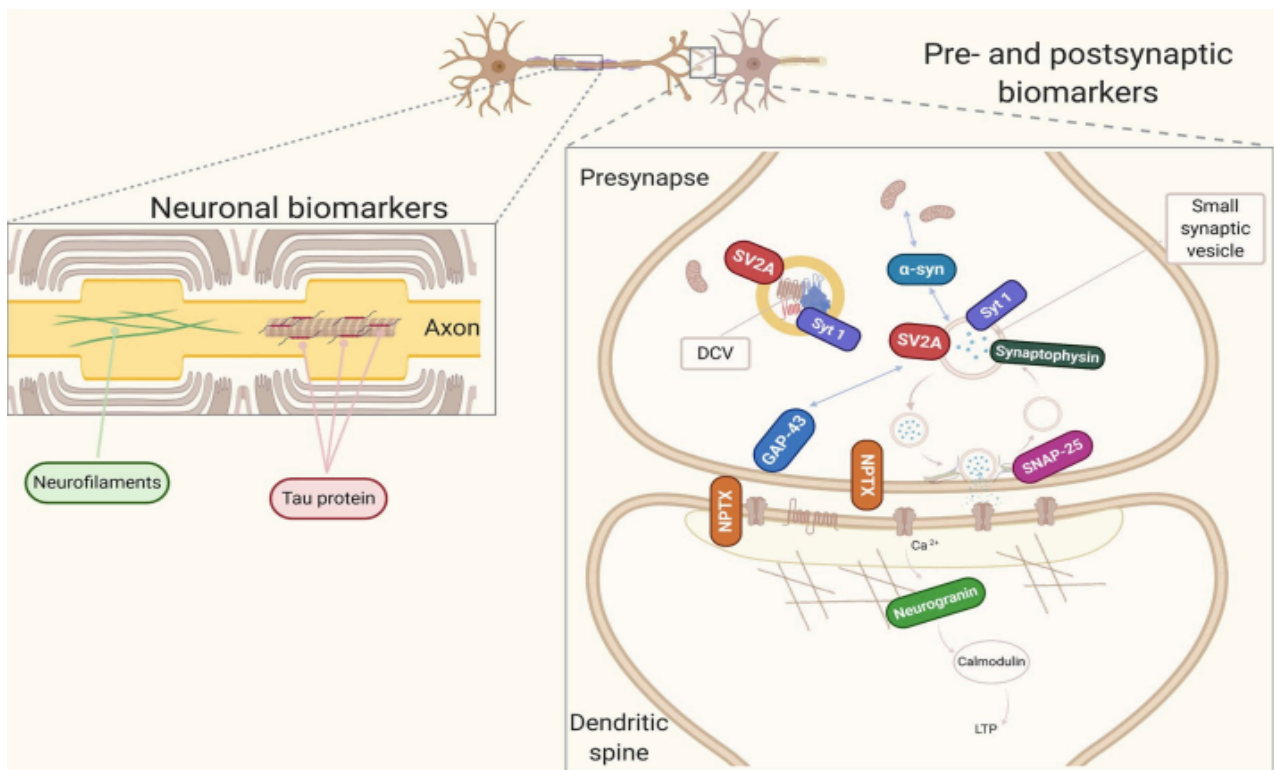


Figura 15 : Localizzazione dei biomarcatori sinaptici e neuronali⁶⁷.

3.7 STADI DELLA MALATTIA DI ALZHEIMER

L'Alzheimer viene classificato in stadi a seconda dei sintomi e dei cambiamenti neuropatologici presenti⁷⁷. (1) Lo stadio preclinico è caratterizzato dall'assenza di segni e sintomi patologici, si riscontrano lieve perdita della memoria e precoci cambiamenti nella corteccia e nell'ippocampo.

Studi effettuati su questi pazienti hanno dimostrato chiaramente che il deposito di amiloide precede la fase sintomatica di 15-20 anni; ciò spiega l'esistenza di una fase silente della malattia che potrebbe essere sfruttata dal punto di vista preventivo⁷⁸ in ottica di una medicina di precisione.

(2) Nello stadio lieve della malattia compaiono alcuni sintomi, tra cui perdita della memoria e della concentrazione, disorientamento nello spazio e nel tempo, disturbi dell'umore e insorgenza di depressione. Tali segni si traducono in difficoltà nello svolgimento delle normali azioni quotidiane⁷⁹.

(3) Lo stadio moderato di AD comporta un incremento della perdita di memoria, con difficoltà a riconoscere e ricordare il nome dei familiari, perdita del controllo impulsivo, nonché difficoltà di lettura, scrittura e linguaggio⁸⁰.

L'ultimo stadio della patologia (4), quello più severo, si riconosce per la diffusione delle placche e dei grovigli di proteina Tau in tutta l'area cerebrale. Tra i sintomi maggiori sono la difficoltà di deglutizione e l'incontinenza, nonché morte per l'insorgenza di complicazioni^{81,82}.

CAPITOLO 4 : CAUSE E FATTORI DI RISCHIO

L'Alzheimer è una malattia multifattoriale caratterizzata da numerosi fattori di rischio modificabili e non modificabili, tuttavia ad oggi non ci sono raccomandazioni specifiche per la prevenzione⁸³ e la diagnosi presintomatica risulta molto difficile⁸⁴.

Tra i fattori di rischio prevalgono l'incremento dell'età, ovvero l'invecchiamento progressivo della popolazione, i fattori genetici, lesioni cerebrali, disturbi vascolari, fattori ambientali, infezioni virali e batteriche.

Al momento attuale nessuna teoria è stata accettata, ma sono numerose le ipotesi proposte.

Tra i fattori non modificabili sono inclusi anche il sesso, l'etnia e la storia familiare⁸³, infatti le donne vivendo più a lungo degli uomini potrebbero essere maggiormente esposte alla malattia, ma le ragioni non sono ancora state chiarite⁸³.

Nella maggior parte dei casi si tratta di una malattia sporadica, il restante 1-2% è di origine genetica con esordio frequente in età presenile, quindi prima dei 65 anni di età. Di queste solo il 13% è causato dalla presenza di una mutazione genica che si trasmette in modo autosomico dominante alle generazioni successive e con alta penetranza⁸⁵.

4.1 INVECCHIAMENTO

Sicuramente il fattore di rischio più importante di Alzheimer è l'invecchiamento, ovvero quel naturale processo graduale e irreversibile di declino funzionale sistemico che colpisce tutti gli organi con esordio intorno ai 65 anni di età.

L'invecchiamento naturalmente porta con sé tutta una serie di mutazioni fisiologiche, tra cui la riduzione del volume cerebrale, la perdita di sinapsi, l'allargamento dei ventricoli in specifiche aree del cervello, la formazione di placche senili e di grovigli di proteina Tau, oltre a disfunzioni metaboliche legate all'accumulo di colesterolo e glucosio. Tali cambiamenti sono causa di ansia, depressione e declino cognitivo, tipico dell'anzianità.

Proprio per questo è difficile distinguere i cambiamenti naturali caratteristici dell'invecchiamento da casi precoci di AD^{86,87}.

L'Alzheimer è classificabile a seconda dell'età di esordio in precoce o tardivo, nel primo caso (EOAD, *early onset AD*) insorge tra i 30 e i 60 anni di età nell'1-6% dei casi, mentre l'esordio tardivo (LOAD, *late-onset AD*) è comune dopo i 65 anni⁸⁸.

4.2 IL FATTORE GENETICO

Le forme autosomiche dominanti di Alzheimer rappresentano una piccola percentuale dei casi e sono caratterizzate da una mutazione a carico di uno dei seguenti geni: ApoE, APP, PSEN-1 o PSEN-2⁸⁹.

Il gene Presenilina-1 (PSEN-1) è causa di almeno il 43% di tali malati⁹⁰.

I fenotipi associati a tali varianti geniche sono caratterizzati tipicamente da disordini della memoria nell'80% dei casi, disturbi del comportamento e sintomi non-cognitivi, come Parkinson, atassia e crisi epilettiche⁹¹.

Tuttavia le forme autosomiche dominanti non sono unicamente monogeniche, e ancora altri fattori genetici hanno notevole importanza anche nelle forme non-autosomiche⁹². Queste ultime non hanno completa penetranza, ma forme complesse a seconda della combinazione di fattori di rischio che afferiscono il paziente⁹³.

4.3 APOLIPOPROTEINA E

Intorno agli anni Ottanta venne identificato ApoE, ovvero il gene che codifica per la apolipoproteina E⁹³, una proteina transmembrana di 34-kDa composta da 299 aminoacidi, la cui funzione è l'endocitosi di lipidi, per lo più LDL e colesterolo, essenziali per la produzione di mielina⁷⁷.

Presenta una singola glicosilazione in Thr-194⁹⁴ e due domini strutturali separati da un ponte a cerniera. Le quattro eliche che compongono la struttura tridimensionale sono disposte in modo anti-parallelo⁹⁰.

Il gene ApoE si trova nel cromosoma 19⁹⁵ e codifica per tre isoforme che differiscono per un polimorfismo legato al residuo 112 e 158.

ApoE2 ha due cisteine in entrambi i siti, ApoE ϵ 4 ha due arginine, mentre ApoE3 ha una cisteina in 112 e un'arginina in 158⁹⁵⁻⁹⁷.

Quest'ultima avendo Arg-158 è in grado di formare un ponte salino con Asp-154, mentre in ApoE4 il ponte salino è interrotto e l'acido aspartico in 154 interagisce con Arg-150 alterando l'intera regione recettoriale di legame^{96,98,99}.

Il 65-80% di tutti i malati di AD sono portatori di almeno un allele ApoE ϵ 4⁹⁰, con un aumentato il rischio di malattia sia EOAD sia LOAD. Nei portatori eterozigoti il rischio aumenta di un fattore tre o quattro, mentre negli omozigoti fino ad un fattore 14⁹³.

Almeno il 25% delle persone nel mondo hanno almeno un allele ApoE ϵ 4, il 21% in Europa¹⁰⁰.

Il meccanismo con cui ApoE ϵ 4 afferisce l'Alzheimer è incerto, sembra in grado di accelerare il deposito di beta-amiloide nelle placche¹⁰¹, ridurre la clearance^{102,103} o competere con A β nel

meccanismo di clearance¹⁰⁴. Inoltre è causa di angiopatia amiloide cerebrale (CAA), un importante marker di AD¹⁰⁵, e di danno vascolare¹⁰⁶.

In risposta a stress o traumi, i neuroni sintetizzano ApoE per facilitare il trasporto di colesterolo e lipidi alla membrana per ripararne il danno. L'eccesso di ApoE richiama dal reticolo endoplasmatico del Golgi una specifica proteina proteolitica in grado di degradarla in frammenti neurotossici di 29-kDa. Questi frammenti fuggono dalla via secretoria, entrano nel citosol dove stimolano la fosforilazione di Tau e inducono disfunzione mitocondriale e alterazione del citoscheletro^{107,108}.

Strutture correttive sono in grado di bloccare l'interazione ionica dell'Arg-61 e Glu-255, rappresentando un potenziale approccio terapeutico per ridurre il danno indotto da ApoE ϵ 4⁹⁰.

Ad oggi però le strategie predittive non sono raccomandate per l'uso clinico in quanto l'accuratezza predittiva è ancora molto bassa, tuttavia una precoce caratterizzazione dei componenti lipoproteici del sangue può essere informativa⁹⁰.

4.4 PROTEINA PRECURSORE DELL'AMILOIDE (APP)

Sono numerose le mutazioni geniche associate al gene che codifica per la proteina APP. Tale gene si trova nel cromosoma 21 e le mutazioni ad oggi conosciute che interessano l'AD sono 25.

Un'unica mutazione, A673T, è protettiva e nello specifico riduce la quantità di beta-amiloide favorendo la secrezione delle forme A β ₄₀ e A β ₄₂^{105,109}.

Gli esperimenti condotti in modelli murinici hanno evidenziato come tutte le mutazioni nella funzione delle secretasi comportino un aumento dei livelli di amiloide nelle placche.

Mutazioni come T714I, V715A interessano la γ -secretasi inducendo un aumento del rapporto A β ₄₂/A β ₄₀.

4.5 PRESENILINA-1 (PSEN-1) E PRESENILINA-2 (PSEN-2)

PSEN-1 e PSEN-2 sono geni che interessano le forme autosomiche dominanti precoci EOAD, localizzati nei cromosomi 14 e 1 e con similarità del 67%⁷⁷. L'omologia di struttura evidenzia differenze a livello della regione N-terminale e della regione idrofila.

PSEN-1 ha un nucleo proteico in grado di attivare il complesso γ -secretasi aumentando la produzione di beta-amiloide dalla APP. Le mutazioni a carico di PSEN-1 sono comuni e studi con modelli *knock-out* hanno evidenziato il suo ruolo nel mantenimento della memoria e dei neuroni¹¹⁰.

Le mutazioni più comuni sono singole sostituzioni amminoacidiche, o doppie nelle forme più gravi¹¹¹.

Le mutazioni a carico di PSEN-2 sono rare e poco numerose, circa 40. Giocano un ruolo meno importante nella produzione di beta-amiloide, tuttavia sono causa delle forme familiari di AD dove risulta aumentata la funzione delle γ -secretasi.

4.6 ATP BINDING CASSETTE TRANSPORTER A1 (ABCA1)

I trasportatori *ATP-binding cassette* appartengono alla superfamiglia di proteine di membrana altamente conservate responsabili del trasporto di molti substrati attraverso la membrana cellulare¹¹². Sono classificate in sette sottogruppi (ABC-A/ABC-G), costituite da 4 domini: due domini di legame NBD e due domini transmembrana TMD¹¹²

Il gruppo ABCA contiene 12 trasportatori funzionali, da ABCA1 a ABCA13, con ABCA11 che rappresenta un trascritto pseudogenico.

Il sottogruppo-A presenta due grandi *loop* extracellulari tra i domini transmembrana che funzionano come siti di legame per il ligando, ovvero l'ATP¹¹³.

ABCA1 è espresso in modo ubiquitario nel corpo, ma altamente espresso nei neuroni, negli astrociti e nella microglia del sistema nervoso¹¹⁴.

Tali trasportatori regolano la redistribuzione di colesterolo, lipidi e fosfolipidi nei neuroni¹¹⁵, facendo in modo che l'eccesso venga rilasciato alle apolipoproteine, come ApoA1 e ApoE, per essere catabolizzato nel fegato e generare HDL (*high density lipoprotein*)¹¹⁶.

Il colesterolo, infatti, è il principale componente delle membrane cellulari, fondamentale per regolare la fluidità, la rigidità, regolare la trasduzione del segnale e la permeabilità¹¹⁷.

Mutazioni *loss of function* in ABCA1, nel cromosoma 9, comportano un deficit di trasportatore, quindi uno squilibrio omeostatico di colesterolo¹¹⁸, che risulta citotossico, nonché ridotti livelli di ApoE e della sua lipidazione, fondamentale per consentire l'affinità di legame con A β ¹¹⁹.

Studi di laboratorio evidenziano come una deficienza nei trasportatori ABCA1 incrementino il deposito di amiloide nelle placche e impediscano la lipidazione di ApoE¹²⁰.

Una up-regolazione di ABCA1, quindi un'incrementata lipidazione di ApoE, potrebbe risultare una buona strategia terapeutica per migliorare i pazienti di AD A β -positivi.

A livello periferico le lipoproteine contribuiscono al deposito vascolare di colesterolo, determinando una riduzione del lumen vascolare, infiammazione e aterosclerosi, inclusi i vasi cerebrali.

Le HDL facilitano la rimozione di tale colesterolo risultando protettivi per le malattie cardiovascolari e l'AD. Pazienti con deficienza HDL comportano bassi livelli di ApoE nel plasma quindi ad alto rischio¹²¹.

I trasportatori ABCA7, come ABCA1, mediano la formazione di HDL nel sangue per il rilascio di colesterolo ad ApoA1, in modo molto ridotto rispetto ad ABCA1¹²².

Deficit in ABCA7 comporta un incrementato carico della beta-amiloide nelle placche, peggiorando la condizione di AD.

4.7 IL GENE DELLA CLUSTERINA (CLU)

Una piccola frazione dei pazienti AD, circa il 9%, ha una relazione con il gene CLU¹²³ localizzato nel cromosoma 8, che risulta iper-regolato nella corteccia, nell'ippocampo e nell'amigdala.

Nello specifico i livelli di CLU nel plasma sembrano associati con una tanto più elevata gravità e severità della patologia, rappresentando così un possibile biomarcatore di Alzheimer.

La Clusterina, o apolipoproteina J, è una proteina coinvolta nel trasporto di colesterolo e fosfolipidi, nonché nell'aggregazione dei peptidi di amiloide¹²⁴.

Infatti CLU lega spontaneamente e con alta affinità il peptide da 42 aminoacidi, formando un complesso CLU-Beta-amiloide-42 di forma e dimensioni variabili. Legando tale peptide, lo sequestra da un'ulteriore aggregazione in oligomeri o fibrille, quindi impedisce l'elongazione delle fibrille di amiloide¹²⁵.

Ne risulta che l'amiloide rimanga stabile in piccoli oligomeri solubili¹²⁴, impedendo al tempo stesso la loro dissociazione¹²⁶.

Studi dimostrano che la Clusterina stimola la neurotossicità della beta-amiloide causando atrofia cerebrale, quindi potrebbe dimostrarsi un fattore precoce di AD¹²⁷.

Inoltre nel suo ruolo di trasportatrice di lipidi risulta coinvolta tra i fattori di rischio dell'aterosclerosi, quindi in grado di afferire indirettamente l'Alzheimer aumentando il danno cerebrovascolare e la neurodegenerazione¹²⁸.

Tuttavia presenta anche un ruolo protettivo, poiché è in grado di legare i residui idrofobici e tossici esposti sugli aggregati di amiloide prevenendone la neurotossicità¹²⁹.

4.8 BRIDGING INTEGRATOR 1 (BIN1)

Il gene BIN1, conosciuto come amfifisina 2, è uno dei più importanti fattori di rischio genetici per i casi sporadici di LOAD. Il gene è localizzato sul cromosoma 2q14 e codifica per una proteina soppressore tumorale, la quale lega e blocca una oncoproteina, Myc¹³⁰. Di conseguenza un'espressione anomala di BIN1 e quindi un'interazione aberrante BIN1-Myc può interferire con il processo apoptotico¹³¹.

Ha numerose altre funzioni, tra cui codifica per una proteina in grado di legare i lipidi di membrana e quindi aiutare la modulazione della curvatura di membrana¹³⁰.

Presenta varie isoforme, di cui sette cervello-specifiche, ma differentemente distribuite nella materia bianca e grigia cerebrale.

Nel cervello dei pazienti di Alzheimer i livelli di proteina neuronale BIN1 sono notevolmente ridotti, tuttavia ad oggi non sono ancora stati chiariti i meccanismi con cui tale proteina afferisca alla patologia¹³⁰.

Le ipotesi proposte sono legate all'aumentata produzione della beta-amiloide o di proteina Tau⁷⁷.

4.9 EVOLUTIONARILY CONSERVED SIGNALLING INTERMEDIATE IN TOLL PATHWAY (ECSIT)

Il gene ECSIT è localizzato nel cromosoma 19 e codifica per numerose proteine adattatrici, le cui disregolazioni trovano implicazioni nella fisiopatologia dell'Alzheimer.

È responsabile della stabilizzazione del complesso respiratorio dei mitocondri, si occupa dell'attivazione di fattori di trascrizione nucleare come NF-kB, dei fattori di regolazione degli interferoni e l'attivazione della proteina-1.

La sua funzione principale è l'accoppiamento dei recettori dell'immunità innata *Toll-like* (TLR), l'omeostasi morfogenetica dell'osso e della via di TGF-β (fattore di crescita trasformante beta).

I depositi di amiloidi possono essere considerati dei DAMPs (pattern molecolari associati al danno), riconosciuti dai TLR sono in grado di trasmettere un segnale intracellulare con aumentata produzione di molecole pro-infiammatorie¹³².

ECSIT interagisce con molte proteine mitocondriali che prendono parte alla proteolisi intra-mitocondriale e alla trasmissione del segnale redox.

Studi dimostrano che ECSIT interagisce con alcuni geni implicati in AD, come ApoE, PSEN-1 e PSEN-2, suggerendo come questo gene rappresenti una connessione tra malattia e lo stress ossidativo, l'infiammazione e la disfunzione mitocondriale¹³³.

4.10 GENE DEL RECETTORE DEGLI ESTROGENI (ESR)

Due terzi degli affetti di AD sono donne, che soffrono di un deterioramento mentale più severo rispetto agli uomini.

Alcuni studi dimostrano come il rischio di AD sia strettamente associato alla perdita di ormoni ovarici durante la menopausa, dopotutto sono gli estrogeni che regolano la neurotrasmissione, lo sviluppo neuronale, la sopravvivenza, proteggono dallo stress ossidativo, riducono i livelli del peptide beta-amiloide e attenuano l'iperfosforilazione di Tau.

L'attività è mediata dal recettore per gli estrogeni (ERs), il quale presenta due isoforme: ER α ed ER β , codificate rispettivamente nei cromosomi 6 e 14¹³⁴.

I recettori ER α si trovano nell'ipotalamo e nell'amigdala, mentre quelli ER β nell'ipotalamo e nella corteccia.

Polimorfismi a carico di un singolo nucleotide potrebbero influenzare estrogeni ed afferire l'invecchiamento cognitivo in donne adulte⁶³.

Inoltre si pensa che polimorfismi genetici legati alla sintesi e al metabolismo degli estrogeni possano essere responsabili di alti livelli di estrogeni e di metaboliti potenzialmente tossici che incrementano il rischio di AD.

Geni implicati nella sintesi e nel metabolismo, come i citocromi e le COMT (catecolo O-metiltransferasi), sembrano avere un'associazione con ApoE ϵ 4^{63,135}.

I portatori di ApoE ϵ 4 combinati con il polimorfismo Met/Val nelle COMT hanno riportato punteggi inferiori nel test MMSE (*mini mental state examination*) e risultano maggiormente a rischio di rapido declino cognitivo e basse funzioni cerebrali, ma con effetti contrastanti nell'uomo e nella donna¹³⁵.

Infatti alti livelli di estradiolo non hanno portato benefici cognitivi alla donna.

In laboratorio sono emerse numerose evidenze neuroprotettive degli estrogeni, ma nella pratica clinica gli effetti risultano ambigui.

4.11 ALTRI GENI

Alcuni studi evidenziano come polimorfismi genetici associati al gene che codifica per il recettore della vitamina D (VDR), possano ridurre l'affinità della vitamina al recettore con conseguente disturbo neurodegenerativo e neuronale¹³⁶.

4.12 FATTORI EPIGENETICI

Metilazioni del DNA, modificazioni degli istoni e rimodellamento della cromatina sono fattori epigenetici che risultano alterati in molti casi di AD⁶³.

La metilazione del DNA è mediata dall'enzima DNA-metiltransferasi (DNMT)¹³⁷ e può rappresentare un potenziale biomarcatore di malattia.

Ne sono un esempio le modifiche nella metilazione delle citosine normalmente presenti nel promotore del gene della APP che possono essere demetilate con l'età e portare all'accumulo di beta-amiloide¹³⁸. Allo stesso modo la metilazione della proteina Tau può ridurre la clearance e aumentare i livelli totali di proteina¹³⁹.

L'alterata metilazione di geni come APP, PSEN-1 e PSEN-2 possono influenzare la memoria e la comprensione, e quindi giocare un ruolo importante nel meccanismo fisiopatologico di Alzheimer. Sono stati osservati livelli più alti di DNA metilato nelle cellule mononucleate del sangue periferico dei pazienti LOAD, rispetto ai controlli, e livelli ancora maggiori per i portatori di ApoEε4, indicando come il DNA metilato globale possa essere un utile biomarcatore per lo screening individuale del rischio di AD¹⁴⁰.

La cromatina è costituita da DNA genomico, proteine dette istoni e fattori associati. Il rimodellamento della cromatina e la modificazione degli istoni possono essere un rischio di AD.

La coda dell'istone ha una struttura molto complessa che include numerose modifiche di tipo covalente, come acetilazione, metilazione, fosforilazione e ubiquitinazione in almeno 20 possibili siti¹⁴¹.

L'acetilazione rappresenta la più importante modifica post-traduzionale che avviene nel cuore dell'istone ad opera dall'istone-acetiltransferasi (HAT), mentre la deacetilazione è influenzata dall'enzima istone deacetilasi (HDAC).

HAT determina un aumento della trascrizione genica, mentre la deacetilazione reprime l'espressione genica condensando la cromatina.

HDACs sono particolarmente espresse in specifiche regioni cerebrali, tra cui la memoria, tuttavia l'over-espressione di tali enzimi comportano un decremento del numero di sinapsi e della plasticità neuronale¹⁴².

In condizioni di stress o danno, i livelli di HDAC2 aumentano riducendo l'espressione di geni implicati nella memoria e nelle funzioni cognitive¹⁴³.

Ad esempio la nicotinammide è stata scoperta essere in grado di aiutare il deficit cognitivo aumentando l'acetilazione della α -tubulina quindi favorendo la stabilità dei microtubuli¹⁴⁴.

Inibitori DNMT (DNA-Metil-transferasi) come Azacitidina sono stati approvati FDA per il trattamento di tumori e leucemia, perché in grado di modulare la metilazione di geni implicati in AD. La ricerca sta sviluppando degli inibitori HDAC per ridurre la deacetilazione, tuttavia non sono adatti per il trattamento continuativo dell'Alzheimer in quanto genotossici, formano specie reattive dell'ossigeno e sono poco stabili¹⁴⁵.

Ad oggi i farmaci sono solo in fase preclinica per i numerosi effetti collaterali.

La maggiore sfida dell'epigenetica è trovare molecole in grado di oltrepassare la BBB, quindi inferiori ai 500 Da. Studi di epigenetica possono portare a nuovi metodi di diagnosi e di terapia di AD.

4.13 LIVELLO DI ISTRUZIONE

Tra i fattori di rischio modificabili di Alzheimer compare il basso livello di istruzione⁸³.

Un'educazione limitata, intesa come numero di anni di istruzione, si pensa possa interferire con il normale sviluppo cerebrale in età infantile determinando una riduzione delle riserve cognitive con conseguenti comportamenti meno salutari⁸³.

Allo stesso modo un lavoro molto manuale comporta minori performance cognitive quindi un rapido e maggiore declino cerebrale¹⁴⁶, rispetto ad un lavoro ad elevato carico intellettuale, ricco di ragionamento, calcolo matematico e linguaggio complesso¹⁴⁷.

4.14 FATTORI ESTERNI

Non tutti i casi di Alzheimer sono riconducibili all'invecchiamento o a mutazioni genetiche, alcuni fattori di rischio ambientali possono indurre neuroinfiammazione e stress ossidativo, come l'inquinamento dell'aria, la dieta, le infezioni e i metalli.

4.14.1 Inquinamento dell'aria

L'atmosfera risulta sempre più concentrata di inquinanti chimici, fisici e biologici, i quali una volta entrati nell'apparato respiratorio sono causa di disturbi respiratori e cardiovascolari.

L'Agenzia per la protezione ambientale ha fissato gli standards nazionali per la qualità dell'aria (NAAQSs) definendo quali sono i sei inquinanti più impattanti: l'ozono (O₃), gli ossidi di azoto, il monossido di carbonio (CO), il particolato e il diossido di zolfo (SO₂).

Negli individui esposti a livelli elevati di inquinanti dell'aria c'è una connessione con l'induzione di stress ossidativo, neuroinfiammazione e neurodegenerazione con incrementata quantità di proteina Tau e Aβ₄₂¹⁴⁸.

Proprio per tale motivo nei fumatori di sigaretta si accentua il danno vascolare e la neurotossicità per l'inalazione diretta di metalli pesanti e idrocarburi policiclici aromatici¹⁴⁹.

4.14.2 Dieta

L'interesse circa il ruolo della nutrizione nell'Alzheimer è cresciuto enormemente negli ultimi anni. Sembrerebbe che supplementi alimentari come antiossidanti, vitamine, polifenoli e omega-3 siano in grado di ridurre il rischio di AD, mentre acidi grassi saturi e un elevato apporto calorico lo aumentano¹⁵⁰.

Nello specifico gli AGEs, propriamente i prodotti finali della glicazione avanzata, insorgono quando grassi e proteine si complessano con gli zuccheri presenti nel sangue. Sono molecole tossiche per la salute, in quanto inducono stress ossidativo e quindi infiammazione⁶³. Il recettore degli AGEs, i RAGE, sono localizzati in modo ubiquitario nel corpo, incluse microglia e astrociti, e nei pazienti affetti da AD risultano iper-espressi¹⁵¹.

La malnutrizione come la deficienza di acido folico, vitamina B₁₂ e D possono ridurre le funzioni cognitive, come nel caso di coloro che hanno difficoltà di deglutizione¹⁵².

4.14.3 Infezioni

Infezioni croniche del sistema nervoso centrale possono causare accumulo di placche di amiloidi e dei grovigli di Tau. Sono stati osservati casi di infiammazione neuronale post-infezione, tuttavia è difficile determinare se l'infiammazione sia la causa o la conseguenza di Alzheimer¹⁵³.

Dati suggeriscono l'idea che l'Alzheimer possa essere la conseguenza di una causa infettiva come *Varicella-zoster virus* (VZV)¹⁵⁴ o di un batterio come il *Porphyromonas gingivalis*¹⁵⁵.

Recenti studi hanno evidenziato che la presenza di alcuni importanti batteri all'interno della cavità orale sono infettivi, quindi in grado di innescare una risposta infiammatoria anche in siti distanti, come a livello cerebrale promuovendo l'insorgenza di AD.

Patogeni come *Porphyromonas gingivalis* causano periodontiti con distruzione del tessuto gengivale che risulta comune e problematico nella popolazione anziana¹⁵⁶.

I sintomi della periodontite, come sanguinamento gengivale e perdita dei denti, sono la conseguenza di un eccesso nella produzione del fattore necrotico tumorale (TNF- α) e di interleuchine (IL-1, IL- β e IL-6)¹⁵⁷ che entrando nella circolazione determinano un'inflammatione cronica e sistemica.

Si è osservato come molteplici malati di AD con disturbi al cavo orale esprimano tali fattori pro-infiammatori ed elevati livelli di anticorpi¹⁵⁸.

Durante le periodontiti infatti il segnale infiammatorio viene trasferito dai macrofagi residenti alla microglia nel cervello, determinando neuroinflammatione che potrebbe contribuire al deterioramento cognitivo e all'insorgenza di AD¹⁵⁹.

Alla famiglia degli *Herpesviridae* appartiene il virus della *Varicella-Zoster* (VZV o HHV-3), responsabile della varicella nei bambini e dell'*Herpes Zoster* negli adulti¹⁶⁰. Dopo la fase acuta e il raggiungimento della barriera emato-encefalica da' luogo a quella che è la fase silente dell'infezione, quindi si stabilizza a livello dei gangli dei nervi ottici.

Un incrementato rischio di AD, indipendentemente dal sesso, è stato identificato in pazienti affetti da *Varicella-Zoster Virus* con età superiore ai 65 anni¹⁶¹.

Il virus sembrerebbe interessare la patogenesi dell'Alzheimer agendo sull'enzima IDE, una proteasi in grado di degradare sia l'insulina sia la beta-amiloide. IDE appartiene alla famiglia delle metalloproteasi Zn²⁺-dipendente¹⁶¹, nel momento in cui si verifica un eccesso di insulina l'enzima viene distrutto, determinando un accumulo delle placche di amiloidi.

4.14.4 Il ruolo dei metalli

Anche i metalli, come il ferro, il rame e lo zinco giocano un ruolo importante nel mantenimento delle normali funzioni cerebrali. È stato studiato come squilibri di tali ioni nel microambiente neuronale possano portare a danni neurodegenerativi, come l'Alzheimer¹⁶².

Studi recenti evidenziano come lo squilibrio nell'omeostasi dei metalli contribuisca al deposito e all'aggregazione di beta-amiloide, all'iperfosforilazione di Tau, alla perdita neuronale e alla neuroinflammatione¹⁶³.

In alcuni pazienti i livelli di ferro e zinco risultano notevolmente aumentati in specifiche aree cerebrali, mentre il rame risulta ridotto, ma molto concentrato in forma libera nel sangue.

Ad esempio la concentrazione di ferro nell'ippocampo di pazienti di Alzheimer è 53,0 $\mu\text{g/g}$ rispetto a 49,8 $\mu\text{g/g}$ dei controlli, similmente nell'amigdala, caudato e putamen¹⁶⁴.

Aberrazioni nei sistemi di trasporto cellulare comportano un incrementato influsso di ferro e un ridotto livello ferro extracellulare¹⁶⁴.

Il ferro (**Figura 16**) penetra nelle cellule endoteliali della barriera emato-encefalica sottoforma di transferrina- Fe^{3+} attraverso i recettori della transferrina¹⁶⁵, mentre la ferroportina-1 trasporta lo ione fuori dalla cellula.

Nei casi di Alzheimer la ferroportina 1 risulta ipo-espressa, mentre il trasportatore dei metalli bivalenti (DMT1), che coopera per l'influsso di ferro, è iper-espressa, determinando concentrazioni elevate di metallo nella cellula¹⁶⁴.

Tramite risonanza magnetica è stato possibile osservare come il Fe^{3+} sia in grado di legare i residui di istidina della beta-amiloide con affinità maggiore rispetto allo zinco, concentrandosi maggiormente nella porzione centrale delle placche. Inoltre legando i depositi di amiloidi, ne aumenta la neurotossicità¹⁶⁴.

Gli IRE, ovvero gli elementi di risposta al ferro, sono stati osservati nell'mRNA del gene APP. Infatti nelle cellule ricche di ferro, lo ione promuove la dissociazione della proteina regolatoria del ferro 1 (IRP1) dalla regione IRE per stimolare l'over espressione della APP¹⁶⁶.

Alterazioni del segnale IRP-IRE sono associati ad alta espressione della APP con deposito di amiloidi ferro-dipendente¹⁶⁷.

Inoltre elevate concentrazioni di ferro sono in grado di inibire le α -secretasi, favorendo le β -secretasi e le γ -secretasi.

Infine il ferro può attivare reazioni redox per l'innescò di stress ossidativo ferro-dipendente, particolarmente pericoloso a causa dell'aumentato rilascio di ferro dalle proteine che lo contengono, come la ferritina e le proteine EME, esacerbandone la tossicità¹⁶⁴.

Dopo l'ingresso del Fe^{3+} nella cellula viene ridotto in Fe^{2+} dall'ambiente acido, accumulandosi come "ferro labile". Tale carico di Fe^{2+} induce la ferroptosi, ovvero un nuovo tipo di morte cellulare, caratterizzato dalla formazione di specie reattive dell'ossigeno tramite la reazione di Fenton e la perossidazione lipidica di acidi grassi poli-insaturi (PUFA) sulla membrana cellulare¹⁶⁸.

I sistemi antiossidanti possono regolare la ferroptosi tramite molecole antiossidanti, quali il glutatione perossidasi 4 (GPX4) prevenendo il danno indotto dai ROS¹⁶⁴.

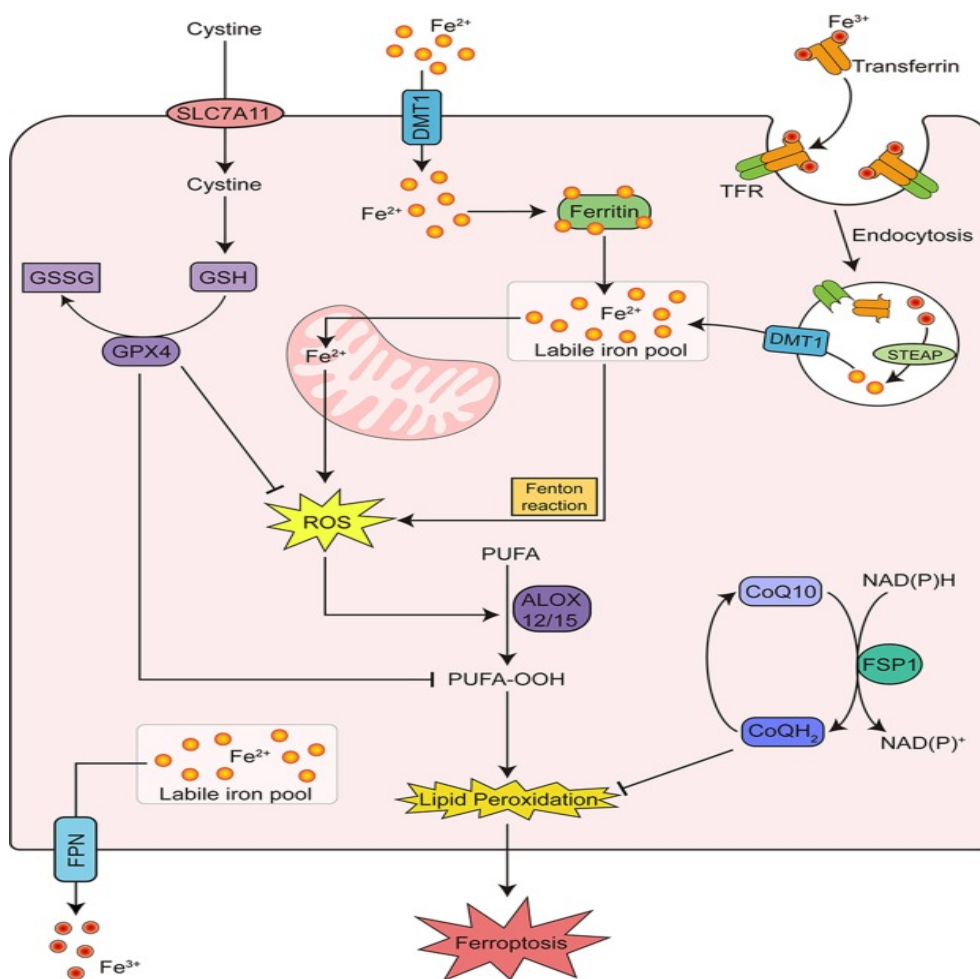


Figura 16 : Ruolo patologico del ferro nella malattia di Alzheimer.

La ferroptosi prende parte anche nella regolazione dell'iperfosforilazione di Tau, infatti ne promuove l'aggregazione per modulazione dell'attività chinasi (GSK3 β , glicogeno sintasi) e la soppressione del sistema proteasico¹⁶⁹.

Infine il ferro induce l'attivazione delle cellule gliali e degli astrociti, con attivazione di fattori di trascrizione come NF-kB e produzione di molecole pro-infiammatorie, tra cui IL-6 e TNF- α ¹⁶⁴.

L'interleuchina 6 media la sovraregolazione di IRP1 e DMT1 aggravando il carico di ferro nella cellula¹⁷⁰, mentre TNF- α è una citochina pro-infiammatoria opposta a TGF- β 1, dove entrambe hanno come target il metabolismo del ferro.

TNF- α promuove l'uptake e la ritenzione di ferro nelle cellule tramite l'espressione di DMT1, mentre TGF- β 1 facilita l'efflusso incrementando l'espressione di FPN¹⁷¹.

Tali risultati hanno spinto la ricerca verso farmaci chelanti del ferro, come la Deferoxamina (DFO), ovvero una molecola idrofila e di grandi dimensioni in grado di legare il metallo per renderlo difficilmente assorbibile nel tratto gastro-intestinale e la barriera emato-encefalica¹⁷².

È un farmaco che per tali caratteristiche presenta numerose limitazioni, tra cui l'uso prolungato può indurre gravi effetti collaterali, come sintomi gastro-intestinali, dolori articolari, neutropenia e agranulocitosi¹⁷³.

Un aumento della liposolubilità del farmaco potrebbe essere una strategia efficace per migliorare la biodisponibilità e il passaggio delle membrane.

Molecole come EGCG (epigallocatechingallato) e la curcumina sono dei chelanti naturali del Ferro, del rame e dello zinco, in grado di attenuare la neuroinfiammazione nei modelli sperimentali¹⁶⁴.

4.15 FATTORI MEDICI

Molti pazienti di Alzheimer spesso soffrono di comorbidità con conseguente aumentato rischio di peggioramento della malattia, in termini di gravità e di rapidità.

Fattori di rischio metabolici e vascolari come l'ipertensione, l'ipercolesterolemia, l'obesità, il diabete mellito e l'aterosclerosi creano un disturbo vascolare generalizzato che si traduce in ridotto flusso sanguigno al cervello e aumentato accumulo di beta-amiloide, oltre ad una risposta neuroinfiammatoria ed immunitaria¹⁷⁴.

4.15.1 Disturbi cardiovascolari

I disturbi cardiovascolari rappresentano un importante fattore di rischio per l'Alzheimer, infatti l'ictus porta con sé la perdita di tessuto neuronale con aumentato effetto degenerativo.

L'insufficienza cardiaca comporta un ridotto volume di sangue eiettato in tutto il corpo, incluso il cervello, determinando condizioni di ipossia e danno neurale⁷⁷.

L'ipertensione, come l'aterosclerosi, è associata ad un restringimento del lumen vascolare che riduce il flusso sanguigno cerebrale e generale.

L'elevata pressione in età adulta, BP > 140/90mmHg tra i 40 e i 65 anni, seguita da ipotensione in tarda età è la condizione peggiore per la salute cerebrale.

Tuttavia i disturbi vascolari generalizzati sono fattori di rischio modificabili per cui la prevenzione o il trattamento farmacologico, come gli anti-ipertensivi, possono risultare protettivi nell'insorgenza di AD¹⁷⁵.

4.15.2 Obesità e diabete

Per obesità è intesa quella condizione di elevato grasso corporeo, in cui le calorie assunte superano quelle bruciate e può essere calcolata con l'indice di massa corporea (BMI > 30kg/m²)⁸³.

Pertanto l'obesità, o sindrome metabolica, è una condizione infiammatoria in cui le cellule adipose presenti in gran numero, producono quantità maggiori di citochine pro-infiammatorie in grado di stimolare macrofagi residenti e linfociti determinando prima un'inflammatione localizzata e successivamente sistemica.

La microglia, ovvero i macrofagi residenti nel cervello, è deputata al controllo del microambiente neuronale di molecole dannose, come ad esempio un incrementato deposito di beta-amiloidi¹⁷⁶.

La conseguente attivazione cronica della microglia stimola nuovamente una maggiore produzione di citochine infiammatorie che concorrono alla neuropatologia dell'Alzheimer¹⁷⁶.

Inoltre sono state individuate varianti geniche nel recettore dei macrofagi TREM2, il quale è altamente espresso nella microglia, in grado di aggravare l'inflammatione.

L'obesità concorre anche alla resistenza insulinica, quindi un aumento cronico della glicemia fino alla condizione di diabete di tipo 2.

Chi soffre di diabete mellito di tipo 1 e di tipo 2 va incontro ad un rischio doppio di incorrere nell'Alzheimer per l'elevato accumulo dei prodotti finali derivati dalla glicazione¹⁷⁷, per la compromissione dei recettori dell'insulina^{178,179} e la diretta tossicità neuronale del glucosio¹⁷⁹.

Anche l'ipercolesterolemia compromette l'integrità della barriera ematoencefalica con aumento del deposito di beta-amiloidi e di neuroinfiammazione ed esacerbazione della patologia¹⁸⁰.

Elevati livelli di colesterolo ad alta densità (LDL-C) risultano associati ad un maggiore rischio¹⁸¹, mentre il colesterolo a bassa densità (HDL) è protettivo¹⁸², al momento non risultano associazioni con i trigliceridi¹⁸¹.

4.16 FATTORI DI RISCHIO SECONDARI

Disturbi del sonno, come l'insonnia e difficoltà respiratorie-apnea, inducono una minore clearance di metaboliti neurotossici, quindi un maggiore accumulo¹⁸³, infatti è stata osservata un'associazione tra demenza e durata del sonno tra le meno di 6 ore e più di 8 ore¹⁸⁴.

Un consumo di caffè o di tè verde basso (1-2/die) e non alto (>3) al giorno sono associati a ridotto rischio di AD per la presenza di componenti neuroprotettivi come la caffeina e la L-teina che sembrano inibire l'aggregazione di amiloide e ridurre lo stress ossidativo¹⁸⁵

4.17 FATTORI DI PROTEZIONE

Tra i fattori di protezione raccomandati figurano in prima linea il controllo del peso corporeo associato ad attività fisica per prevenire tutti i danni indotti dalla sindrome metabolica, limitare il consumo di alcool e il fumo di sigaretta, se possibile svolgere lavori o attività ad elevate performance cognitive ed evitare l'isolamento sociale, ovvero mettersi in gioco in tutte quelle attività di comunità a stretto contatto con le persone¹⁸⁶.

CAPITOLO 5 : VALUTAZIONE CLINICA E DIAGNOSI

5.1 VALUTAZIONE DEL PAZIENTE DA PARTE DEL MEDICO

Il clinico adotta un approccio sistematico per la valutazione e la gestione del paziente con sospetto danno cognitivo o demenza, mettendo in atto tutta una serie di procedure che consentano di valutarne il reale status mentale.

Il primo approccio comincia con un dialogo con il paziente e con un informatore/parente dello stesso, che conosca e possa recensire correttamente la sua storia clinica e la sua vita.

Inoltre è importante riportare alla luce l'educazione del paziente, la sua occupazione e la situazione di vita vissuta.

Vengono poste all'informatore domande aperte, affinché la descrizione dei sintomi che afferiscono il paziente possa essere più dettagliata possibile per valutare la severità del problema.

Successivamente il clinico valuta l'impatto che tali sintomi hanno sulla vita del paziente, ovvero la capacità di svolgere le normali azioni quotidiane, come cucinare, gestire le proprie finanze, usufruire dei trasporti, ma anche lavarsi, vestirsi e nutrirsi.

Tutto ciò viene affrontato chiedendo di descrivere una giornata tipica o le attività che lo tengono impegnato.

Importante è comprendere se il paziente sia meno efficace nel portare a termine tali compiti, se impieghi più tempo, se commetta errori o se debba chiedere aiuto.

Senza dubbio è necessario puntare l'attenzione anche sulla sua storia clinica, ovvero eventuali disturbi vascolari, psichiatrici o neurologici, l'abuso di alcol e la storia familiare per valutare possibili fattori di rischio genetici¹⁸⁷.

Dopo l'anamnesi si effettuano test specifici, come il MMSE, per predire la progressione della malattia e discernere di cosa di tratti.

Successivamente vengono svolti numerosi test di laboratorio che possano confermare la diagnosi, tra cui l'ipotiroidismi, deficit di vitamina B₁₂ e D, folati, presenza di metalli pesanti, proteina C-reattiva e anticorpi anti-nucleo¹⁸⁷.

Infine il test di imaging per una maggiore resa diagnostica.

È indispensabile per il clinico per valutare la presenza di strutture non attese, come una massa tumorale, o per verificare segnali tipici di specifici disturbi neurologici, come l'atrofia ippocampale nell'Alzheimer¹⁸⁸.

Se la diagnosi non fosse ancora chiarita, si esegue la FDG-PET per distinguere la demenza frontotemporale dall'Alzheimer, in quanto è possibile determinare la presenza di amiloide¹⁸⁷.

Infine nel liquido cerebro-spinale viene testata la presenza di specifici biomarcatori quali il beta amiloide-42 e Tau iperfosforilata¹⁸⁹.

5.2 BIOMARCATORI

Nel campo diagnostico i biomarcatori di Alzheimer sono raggruppati secondo la classificazione ATN, dove A rappresenta la quantità di beta-amiloide, T la proteina Tau fosforilata ed N la neurodegenerazione, la quale viene misurata come quantità di proteina Tau presente.

Tuttavia tale *framework* non può essere usato nella pratica clinica per la presenza di un gran numero di categorie ATN e il fatto che gli altri tipi di demenze non siano incluse. Inoltre ci sono difficoltà circa la definizione di positività e negatività ad A, T ed N in quanto di alcuni biomarcatori non è ancora stato determinato il *cut-off*.

5.3 TEST DI FOLSTEIN o MMSE

Molto spesso nei casi di sospetta demenza il clinico utilizza il test MMSE, *Mini-Mental State Examination*, (**Figura 17**) un vero e proprio strumento diagnostico usato per valutare lo status mentale di un paziente con medi disturbi cognitivi e predirne l'evoluzione a lungo termine.

MMSE è un semplice questionario scritto proposto in clinica per la prima volta nel 1975 da Folstein e collaboratori, il quale si compone di 30 domande utili per valutare

l'attenzione, l'orientamento, il linguaggio, la memoria e la capacità di calcolo del paziente¹⁹⁰.

È un test molto semplice che richiede al massimo 10 minuti per la compilazione e un punteggio finale, il quale serve al clinico per capire se tale individuo ha bisogno di indagini più approfondite, spesso per coloro che ottengono i punteggi inferiori a 23/24 punti sui 30 totali.

È un test che presenta delle limitazioni, in quanto è influenzato da variabili come l'età, fattori socioculturali e l'educazione, di conseguenza standards locali devono essere sviluppati per ogni popolazione ed ogni ambiente indagato¹⁹⁰

SCALA MMSE (*Mini-Mental State Examination*)

1. Orientamento spazio-temporale

Il paziente sa riferire il giorno del mese, l'anno, il mese, il giorno della settimana e la stagione.

[0] [1] [2] [3] [4] [5]

Il paziente sa riferire il luogo in cui si trova, a quale piano, in quale città, regione, stato.

[0] [1] [2] [3] [4] [5]

2. Memoria

L'esaminatore pronuncia ad alta voce tre termini (casa, pane, gatto) e chiede al paziente di ripeterli immediatamente.

[0] [1] [2] [3]

L'esaminatore deve ripeterli fino a quando il paziente non li abbia imparati (max 6 ripetizioni).

Tentativi n. _____

3. Attenzione e calcolo

Far contare per sette all'indietro, partendo da 100. Fermarsi dopo le prime 5 risposte.

Se il paziente avesse difficoltà di calcolo, far scandire all'indietro la parola "MONDO" una lettera alla volta.

[0] [1] [2] [3] [4] [5]

4. Richiamo delle tre parole

Richiamare i tre termini precedentemente imparati. [0] [1] [2] [3]

5. Linguaggio

Il paziente deve riconoscere due oggetti.

Come si chiama questo? (indicando una matita). Come si chiama questo? (indicando un orologio).

[0] [1] [2]

Invitare il paziente a ripetere la frase "TIGRE CONTRO TIGRE".

[0] [1]

Esecuzione di un compito su comando.

Invitare il paziente ad eseguire correttamente i seguenti ordini:

- a) prenda un foglio con la mano destra,
- b) lo pieghi a metà,
- c) lo butti dal tavolo.

[0] [1] [2] [3]

Presentare al paziente un foglio con la seguente scritta: "Chiuda gli occhi".

Invitare il paziente ad eseguire il comando indicato

[0] [1]

Far scrivere al paziente una frase formata almeno da soggetto e verbo.

[0] [1]

Far copiare al paziente il disegno indicato.

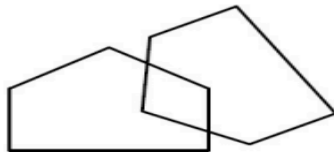
[0] [1]

(Il materiale delle ultime due prove va conservato)

PUNTEGGIO COMPLESSIVO ____/30

PUNTEGGIO COMPLESSIVO AGGIUSTATO ____/30

Disegno



Frase

Figura 17: Esempio di Test diagnostico MMSE, Regione Emilia-Romagna

5.4 ALTRI TEST PER VALUTARE LA FUNZIONALITA' COGNITIVA

ADAS-Cog, *Alzheimer's disease assessment scale*, è una scala sviluppata negli anni Ottanta di valutazione della malattia di Alzheimer in grado di determinare le caratteristiche dei sintomi, non come strumento diagnostico¹⁹¹.

Consiste in 12 test per valutare la memoria a breve e lungo termine, l'orientamento spazio-temporale, il linguaggio, la prassia, l'attenzione e la concentrazione.

Il punteggio va da 0 a 70, dove quest'ultimo indica un grave deficit in tutti i test¹⁹².

Il CDR, *clinical dementia rating scale*, valuta in modo pratico lo stato della malattia. È una scala di 5 punti usata per caratterizzare diversi domini, tra cui la memoria, l'orientamento, il giudizio, il *problem solving*, gli affari, la casa, gli hobby e la cura personale¹⁹³.

Il risultato è l'insieme della valutazione sia da parte paziente sia dell'intervista di chi lo assiste, per entrambi infatti sono fornite domande da porre per ottenere le informazioni necessarie.

Il punteggio finale fornisce un giudizio di gravità complessivo-quantitativo¹⁹³.

5.5 QUALITÀ DELLA VITA

Il concetto di qualità della vita fu introdotto per la prima volta nel 1947 dalla WHO diventando un fattore cruciale per la letteratura medica nonché per la pratica clinica¹⁹⁴.

I pazienti con demenza spesso soffrono di disordini comportamentali che riducono la qualità della vita, nonché quella dei loro familiari e del caregiver. La valutazione del paziente, inoltre, è problematica, poiché hanno un limitata abilità di linguaggio tale per cui l'espressione di una richiesta di aiuto può risultare difficoltosa⁵.

I *caregivers* sono coloro che si occupano in prima persona della cura dei pazienti sotto l'aspetto fisico e psicologico.

Dati provenienti dal *Caregiver Burden Inventory* (CBI) dimostra un collegamento diretto tra la gravità della malattia e l'onere a carico del *caregiver*. Questi ultimi spesso interpretati da una figura femminile, il coniuge o dai figli del malato⁵.

Sono pesanti le ripercussioni sulla salute fisica e mentale del *caregiver*, tale è il pesante carico fisico ed emotivo da condurle anche alla perdita del lavoro con conseguenti difficoltà finanziarie.

Alleviare le sofferenze del paziente, che spesso è una persona amata, richiede un grande sforzo, nonché la collaborazione con tutti i membri della famiglia per garantire il miglior benessere possibile.

I tre maggiori problemi che affliggono i membri della famiglia sono la mancanza di privacy, la deprivazione del sonno e la "*Lone-soldier syndrome*", ovvero la sensazione

di piena responsabilità nei confronti della persona amata affetta da malattia, senza dimenticare la paura per il futuro incerto (PS)¹⁹⁵.

Dove l'incontinenza, il sollevamento di pesi pesanti e la preoccupazione circa il comportamento di malato, sono situazioni che spesso trovano soluzione con il collocamento dell'interessato all'interno di una casa di cura (PS)¹⁹⁵.

Le emozioni che affliggono la famiglia sono la sensazione di non essere abbastanza d'aiuto e la colpevolezza, come pure la tristezza, la rabbia e la speranza di una cura.

L'onere finanziario a carico del malato di Alzheimer e della propria famiglia è drasticamente elevato, sia per il tempo di lavoro sacrificato al lavoro sia per la retribuzione del *caregiver*, senza contare il dispendio economico per una eventuale residenza di cura. Per ridurre il carico di stress ed economico del paziente e della famiglia la ricerca di cure alternative è necessaria.

In Olanda, più precisamente nella cittadina di *Hogewey*, è stato costruito un piccolo villaggio per 150 residenti affetti da AD. Si compone di viali alberati, negozi e ristoranti dove ogni lavoratore in realtà è un infermiere in incognito specializzato nella cura del paziente con demenza. Molti residenti credono sia un vero e proprio villaggio dove sentirsi a casa, quindi vivono una vita normale molto più al sicuro¹⁹⁶.

CAPITOLO 6 : TRATTAMENTO SINTOMATICO DELLA MALATTIA DI ALZHEIMER

Il trattamento sintomatico dell'Alzheimer si basa su due importanti neurotrasmettitori del sistema nervoso centrale che sono fortemente implicati in alcuni sintomi cognitivi e comportamentali della demenza: l'acetilcolina e il glutammato.

Sono farmaci (**Figura 18**) che hanno raggiunto limitati risultati clinici⁴⁴, come un rallentamento o una riduzione dei sintomi, tuttavia non prevengono il danno cerebrale⁵⁰.

6.1 FARMACI ANTI-ACETICOLINESTERASI

In accordo con l'ipotesi colinergica, l'Alzheimer comporta una marcata riduzione della biosintesi di Acetilcolina, che risulta molto diminuita nei neuroni colinergici del prosencefalo basale dei pazienti e della corteccia cerebrale¹⁹⁷.

Di conseguenza gli inibitori dell'acetilcolinesterasi (AChEIs) e del butilcolinesterasi sono farmaci che hanno l'obiettivo di aumentare la neurotrasmissione colinergica, quindi il segnale colinergico nei pazienti con AD¹⁹⁸.

Tali farmaci sono in grado di inibire la degradazione dell'acetilcolina.

Vengono raccomandati nello stadio iniziale della patologia quando la sintomatologia è molto lieve, tuttavia solo il 30-40% dei pazienti risponde alla terapia con un beneficio massimo della durata di due anni.

Nella prima generazione di AChEIs appartiene la Tacrina, che fu commercializzata negli Stati Uniti, ma subito ritirato a causa dell'epatotossicità reversibile e della mancanza di efficacia⁶³.

Nella seconda generazione fanno parte il Donepezil, la Rivastigmina e la Galantamina.

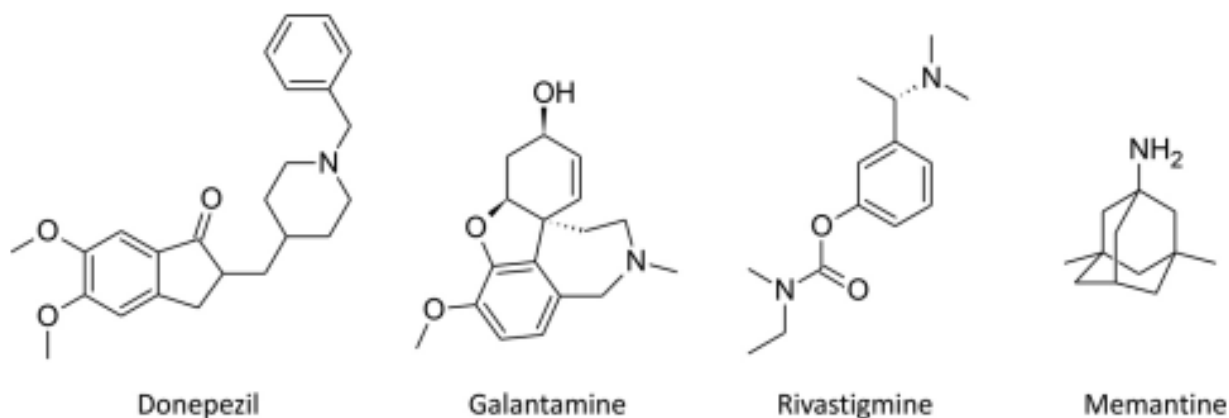


Figura 18 : Struttura chimica dei farmaci sintomatici dell'Alzheimer⁵⁰.

6.1.1 Donepezil cloridrato

È considerato il *gold standard* per il trattamento sintomatico dell'Alzheimer⁶³, agendo come inibitore selettivo e reversibile di AChE, ma con bassa affinità per BuChE⁵⁰.

Evidenze indicano un miglioramento delle attività quotidiane in pazienti con lieve o moderato AD ad un dosaggio di 10mg/die, senza miglioramenti sulla qualità della vita¹⁹⁹.

Chimicamente è un 2-benzilpiperidin-indenone in grado di legare un sito anionico periferico adiacente alla tasca catalitica di AChE impedendo il legame della beta-amiloide con l'enzima, quindi proteggendo i neuroni colinergici dalla tossicità.

Assunto per via orale ha una biodisponibilità del 100% e un'emivita di circa 60 minuti, viene poi metabolizzato a livello epatico dai citocromi CYP2D6 e CYP3A4, ed escreto prevalentemente per via renale¹⁹⁹.

Il polimorfismo del CYP2D6 è strettamente associato alla biodisponibilità del farmaco. È ben tollerato con effetti colinergici dose-dipendenti, modesti e transienti⁶³ che comprendono bradicardia, disturbi gastro-intestinali, crampi muscolari e vertigini¹⁹⁹.

6.1.2 Rivastigmina tartrato

La (S)-rivastigmina è un inibitore pseudo-irreversibile e stereoselettivo di AChE e di BuChE. “Pseudo” in quanto l’inibizione dell’enzima ha una durata di oltre 10 ore. Viene utilizzato per la sintomatologia di AD lieve o moderata¹⁹⁹.

La reazione implicata è una lenta carbamoilazione della Serina-203 nel sito catalitico di entrambe le colinesterasi impedendo per ingombro sterico l’interazione tra Istidina-447 e glutammato-334 della triade catalitica.

Un trattamento di oltre sei mesi ha dimostrato tramite PET (**Figura 19**) un aumento del metabolismo ippocampale in pazienti lievi o moderati²⁰⁰. Inoltre migliora le funzioni cognitive e le attività di tutti i giorni, oltre ai sintomi psicologici nei casi moderati¹⁹⁹.

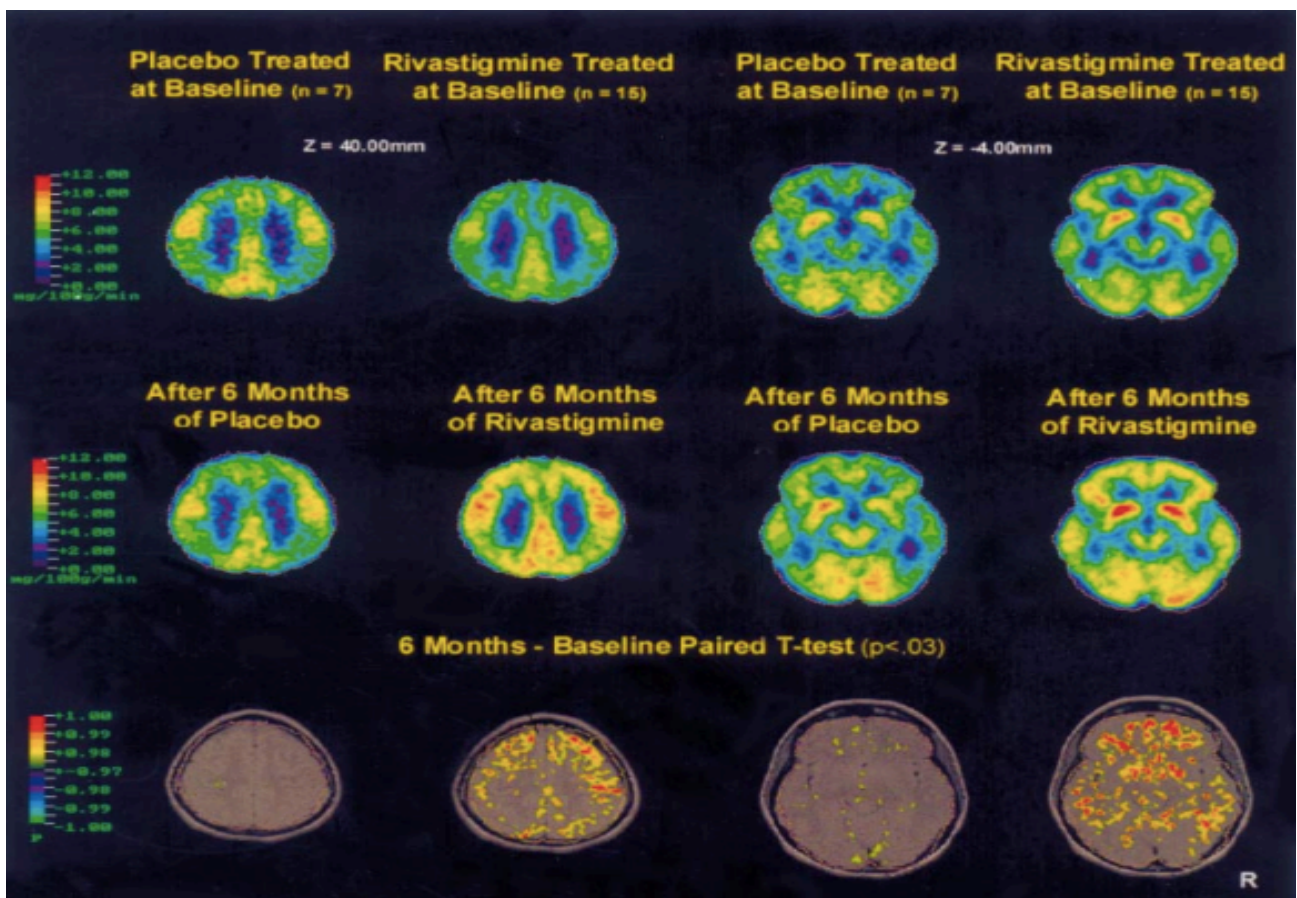


Figura 19 : Metabolismo del glucosio in pazienti responsivi alla rivastigmina rispetto placebo in trattamento di sei mesi²⁰⁰

Il metabolismo avviene per rottura idrolitica del carbammato, senza interessare i citocromi o le proteine sieriche¹⁹⁹, di conseguenza è molto bassa la probabilità di interazioni in pazienti politrattati.

La somministrazione orale comporta disturbi gastrointestinali, dispepsia, astenia, anoressia e perdita di peso⁶³, motivo per il quale spesso il farmaco viene sospeso.

La nuova formulazione di rivastigmina in cerotti transdermici consente di facilitare la somministrazione e il controllo da parte del *caregiver*, ed è utile per tutti gli stadi della malattia, incluso quello severo. L'assorbimento di farmaco avviene entro 30-60 minuti, per mezzo di un polimero acrilico e una matrice siliconica¹⁹⁹.

Studi dimostrano come un cerotto di 10 cm² abbia la stessa efficacia comparata alle capsule ed effetti collaterali lievi rispetto placebo²⁰¹.

La formulazione in cerotti migliora la tollerabilità del farmaco con un miglioramento degli effetti collaterali per un dosaggio minore, ma prolungato.

6.1.3 Galantamina cloridrato

È il farmaco di prima linea per le forme di Alzheimer lievi e moderate⁶³.

Agisce come inibitore selettivo, competitivo e reversibile di AChE aumentando i livelli di acetilcolina nella corteccia cerebrale per rallentamento della degradazione del neurotrasmettitore e modulazione allosterica dei recettori nicotinici colinergici¹⁹⁹. Tramite un innalzamento della concentrazione di calcio intracellulare consente un aumentato rilascio di ACh e NA (noradrenalina) dalle terminazioni nervose pre-sinaptiche.

L'assorbimento è completo e poco influenzato dal cibo, viene poi metabolizzato a livello epatico dal CYP2D6 e dal CYP3A4 formando metaboliti O-dealchilati ed N-ossidati inefficaci¹⁹⁹.

Sono stati riscontrati disturbi al tratto gastro-intestinale, vertigini e infezioni del tratto urinari, mentre nei casi gravi può indurre tossicità cutanea, sindrome di *Stevens-Johnson* e aritmie, anche mortali per il prolungamento dell'intervallo Q-T.

Per migliorare il profilo di sicurezza sono state sviluppate formulazioni a rilascio prolungato¹⁹⁹. La valutazione dell'effetto deve essere svolta dopo trattamento a lungo termine, evidenzia una riduzione dei sintomi comportamentali quali agitazione, ansia e disinibizione¹⁹⁹.

6.2 ANTAGONISTI DEL RECETTORE NMDA

La Memantina è l'unico antagonista del recettore NMDA (N-metil-D-aspartato) attualmente approvato per il trattamento sintomatico dell'Alzheimer, in grado di alleviare i sintomi e il declino cognitivo.

6.2.1 Memantina cloridrato

È un antagonista recettoriale di NMDA incompetitivo per il trattamento delle forme severe di AD, da solo o in associazione con iAChE¹⁹⁹.

L'antagonista incompetitivo è quella molecola in grado di legarsi al canale solo dopo che questo è stato aperto dall'agonista, in tal caso dal glutammato. Perciò è necessario che il canale rimanga aperto per un tempo sufficientemente lungo affinché l'antagonista possa bloccarlo, come in AD.

Il farmaco lega con bassa affinità il canale ionico NMDA post-sinaptico inibendo il flusso prolungato di ioni calcio, che rappresenta la causa principale dell'eccitotossicità¹⁹⁹.

La memantina si lega vicino al sito di legame del Mg^{2+} in NMDAR.

È considerato un farmaco neuroprotettivo, non solo sintomatico, in quanto in grado di bloccare la sovrastimolazione glutammatergica impedendo l'eccitotossicità.

È sicuro e ben tollerato, con effetti collaterali quali mal di testa, allucinazioni, sonnolenza e disturbi gastro-intestinali²⁰².

Somministrata in compresse a rilascio immediato o capsule a rilascio prolungato, vede un assorbimento completo che non necessita della concomitanza dei pasti. Il metabolismo è citocromo-dipendente, ma nessun metabolita risulta attivo.

6.3 TERAPIA DI COMBINAZIONE MEMANTINA/DONEPEZIL

Namzaric® è il farmaco approvato FDA nato dalla combinazione di Memantina e Donepezil per le forme moderate e severe di Alzheimer²⁰³.

Studi dimostrano che un'eccessiva attivazione dei recettori del glutammato portano a degenerazione dei neuroni colinergici¹⁹⁹.

L'effetto sinergico dei due farmaci ha dimostrato maggiori benefici rispetto al singolo farmaco²⁰⁴. Inoltre i vantaggi della terapia combinata comportano migliore compliance anche per coloro con difficoltà di deglutizione e un minore carico di lavoro del *caregiver*.

La combinazione, inoltre, ha prodotto miglioramenti cognitivi, valutazione globale dello status, sintomi neuropsichiatrici e indipendenza, quest'ultima intesa come svolgimento delle normali attività quotidiane²⁰².

Sebbene il costo sia maggiore rispetto alla monoterapia, sembra efficace nel ridurre la progressione della malattia²⁰³.

CAPITOLO 7 : TERAPIA FARMACOLOGICA

7.1 IMMUNOTERAPIA BASATA SULLA BETA-AMILOIDE

Dato il ruolo predominante dell'ipotesi amiloidea nella patogenesi dell'Alzheimer, i ricercatori hanno puntato l'attenzione su farmaci in grado di ridurre la produzione di beta-amiloide, prevenirne l'aggregazione o nel promuoverne la clearance (**Figura 20**). Per decenni le molecole indagate hanno fallito, spingendo a riconsiderare la malattia e i suoi determinanti.

Ad oggi i vaccini e gli anticorpi monoclonali esogeni risultano essere le forme sviluppate più elaborate di immunoterapia anti-amiloide.

L'immunizzazione attiva è in grado di stimolare il sistema immunitario per somministrazione di frammenti amiloidei, così da innescare una risposta immunitaria alla produzione di anticorpi endogeni contro l'amiloide²⁰⁵.

7.1.1 IMMUNOTERAPIA ATTIVA: Vaccini

AN1792 fu' il primo vaccino in un clinical trial di fase 2a ad essere proposto con l'obiettivo di ridurre le placche di beta-amiloide in pazienti con Alzheimer lieve e moderato²⁰⁶.

Lo studio includeva pazienti dai 50 agli 85 anni con probabile demenza e punteggio MMSE da 15 a 26, valutati tramite MRI e concentrazione di Tau e di beta-amiloide-42 nel CSF.

AN1792 era un vaccino peptidico di beta-amiloide (residuo aminoacidico 1-42), molto simile alla proteina fisiologica, in combinazione con un adiuvante per migliorarne la risposta immunitaria²⁰⁷.

Venne interrotto nel 2002 per lo sviluppo di meningoencefaliti nel 6% dei pazienti immunizzati che si verificarono dopo una, due o tre somministrazioni intramuscolo.

Tale effetto collaterale sembrò dovuto ad un'eccessiva attivazione delle cellule T dirette contro le placche²⁰⁷.

Nei mesi successivi non si riscontrarono differenze tra i soggetti immunizzati e i controlli circa le funzioni cognitive, solo una riduzione dei livelli di Tau e di beta-amiloide, indicando la non correlazione tra i segni fisiopatologici di malattia e le funzioni cognitive.

La nuova generazione di vaccini (**Tab. 1**) proposta ha l'obiettivo di aumentare la sicurezza, infatti la porzione peptidica responsabile dell'iperattivazione immunitaria è stata rimossa, ciò che rimane è solo la sequenza in grado di generare specifici anticorpi per beta-amiloide.

Amilomotide (CAD106) è un vaccino che include la porzione N-terminale di beta amiloide (residuo 1-6) come epitopo delle cellule B per generare anticorpi anti-beta amiloide senza una risposta beta-specifica delle cellule T²⁰⁸.

Numerosi studi di fase 2 (tra cui NCT01023685) hanno dimostrato un buon profilo di sicurezza e di tollerabilità per somministrazioni multiple di farmaco²⁰⁹, tuttavia il primo studio di fase 2-3 (NCT01023685) è terminato precocemente per cambiamenti inattesi delle funzioni cerebrali e del volume cerebrale.

Infine UB-311 è composto da due peptidi sintetici di beta-amiloide (residui 1-14) come epitopi per le cellule B. È stato dimostrato in esperimenti pre-clinici di essere in grado di ridurre il carico di beta-amiloide di oligomeri, protofibrille e placche.

Uno studio di fase 2 (NCT02551809) ha dimostrato un buon profilo di sicurezza con il 100% di *responder*, un leggero aumento della funzionalità cognitiva valutata con ADAS-Cog e forte immunogenicità sul target, tuttavia i dati non sono stati confrontati con un gruppo placebo.

Tabella 1 : Trials clinici dei vaccini anti-beta-amiloide

VACCINI ANTI-A β	TRIAL	FASE	ENDPOINT PRIMARIO	PARTECIPANTI	DATA INIZIO	DATA FINE	STATO	RISULTATI
AN1792	NCT00021723	2	Safety, Tolerability & Efficacy	375	2001	2003	Terminato	No
CAD106	NCT02565511	2-3	Slow down progression	480	2015	2020	Terminato	No
	NCT01023685	2	Safety & Tolerability	24	2009	2012	Completato	Si
UB-311	NCT02551809	2	Safety, Tolerability, immunogenicity & Efficacy	43	2015	2018	Completato	Si

A seguito della bassa reattività dei vaccini e dell'evidenza di reazioni avverse T-dipendenti, la ricerca ha proposto anticorpi monoclonali in grado di assicurare un titolo anticorpale, tuttavia accompagnati dagli ARIAs, *amyloid-related imaging abnormalities*, ovvero anomali ritrovamenti rilevati nel cervello tramite MRI che si possono presentare come edema (ARIA-E) e come emorragie o depositi di emosiderina (ARIA-H)²¹⁰, tali situazioni sono esacerbate nei portatori omozigoti del gene APOE ϵ 4. I meccanismi d'azione degli anticorpi generalmente considerati sono^{211,212}:

- 1) Opsonizzazione di beta-amiloide con conseguente attivazione della fagocitosi dei macrofagi e attivazione del complemento;
- 2) Rimozione periferica di amiloide, la quale è in grado di generare un flusso di amiloide fuori dal sistema nervoso centrale per gradiente di concentrazione;
- 3) Modifica alla struttura secondaria dei monomeri di amiloide impedendo la formazione di oligomeri o fibrille;
- 4) Deflusso del complesso A β -anticorpo mediato dal recettore Fc attraverso la barriera emato-encefalica;

7.1.2 ANTICORPI MONOCLONALI

Gli anticorpi sono glicoproteine a forma di Y (**Tab. 2**) composte principalmente da due catene leggere e due catene pesanti tenute insieme da ponti disolfuro.

I domini *Fabs* rappresentano le regioni di legame con l'antigene, mentre il dominio *Fc* è la porzione cristallizzabile, ovvero costante della molecola, in grado di legare i recettori presenti sulle cellule immunitarie²¹³.

Si dividono in 5 categorie che differenziano per struttura e funzione (IgA, IgD, IgE, IgG e IgM), alcune delle quali presentano un'ulteriore sottocategoria (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4).

Gli anticorpi monoclonali terapeutici (**Tab. 3**) legano in modo specifico recettori dell'immunità per modulare uno specifico *pathway*.

Ad esempio l'immunoglobulina IgG1 è l'isotipo maggiormente sfruttato nella pratica clinica per le sue proprietà terapeutiche dovute alla lunga emivita di 23 giorni, alla forma stabile monomerică e alla sua elevata concentrazione sierica²¹³.

7.1.2.1 IMMUNOTERAPIA PASSIVA: Anticorpi anti-amiloide

CRENEZUMAB

È un anticorpo umanizzato IgG4 che lega la regione centrale di beta-amiloide (residuo 13-24) con alta affinità per gli oligomeri, le fibrille e le placche²¹⁴.

Nei recenti **studi di fase 3** (CREAD, CREAD 2 e CREAD OLE) risulta ben tollerato in termini di ARIA-E ed ARIA-H, tuttavia sono **terminati per mancato raggiungimento dell'end-point primario, ovvero rallentamento del declino cognitivo** in pazienti prodromici o con AD precoce²¹⁵, valutato tramite CDR-SB test.

Inoltre è in corso uno studio recente di fase 2 (NCT01998841, Colombia) con l'obiettivo di valutare la sicurezza e l'efficacia in pazienti con mutazione autosomica dominante di PSEN1 tramite somministrazione sottocutanea.

PONEZUMAB

È l'unico anticorpo IgG2 δ A²¹⁴ con due mutazioni indotte per minimizzare la cascata immunologica, favorendo solamente il reclutamento delle cellule fagocitiche⁶.

Lega esclusivamente i monomeri, gli oligomeri e le placche di beta-amiloide-40 ai residui 30-40, nello specifico l'acido carbossilico al residuo 40 della regione C-terminale²¹⁶, senza specificità per l'amiloide-42.

È in grado di esaurire i depositi di beta-amiloide cerebrali sequenstrandoli nel sangue. Due recenti **studi di fase 2** (NCT00722046 con risultati e NCT00945672 senza risultati) hanno valutato il profilo di sicurezza e di tollerabilità di diverse somministrazioni multiple endovena di farmaco in pazienti con lieve e moderato AD. Gli studi sono stati completati, tuttavia i risultati hanno dimostrato oltre **il 25% di ARIA-H e circa il 30% di SAE (gravi effetti avversi) impedendo il progresso in fase 3**. Al tempo stesso il rischio di ARIA-E è risultato pressoché nullo.

SOLANEZUMAB

È un anticorpo umanizzato IgG1 in grado di legare unicamente la porzione centrale dei monomeri di beta-amiloide²¹⁷.

Dopo il **fallimento di due fasi 3** (Expedition 1 NCT00905372 ed Expedition 2 NCT00904683) **per mancata efficacia nel rallentare il declino cognitivo** in pazienti con lieve e moderata malattia²¹⁸, fu proposta Expedition EXT (NCT01127633), ovvero un'estensione *off-label* per valutare la sicurezza (SAE), l'efficacia e la presenza di anticorpi anti-beta-amiloide, tuttavia terminato per mancato raggiungimento di tale *endpoint* primario.

I successivi Expedition 3 ed Expedition PRO sono anch'essi terminati per mancata efficacia nel migliorare le funzioni cognitive.

DIAN-TU (NCT01760005) e DIAN-TU Master (NCT04623242) sono due recenti trial di fase 3 per il confrontare Solanezumab con Gantenerumab e con placebo.

L'obiettivo degli studi è valutare il rallentamento della progressione di malattia in soggetti che presentano mutazione ereditaria ai geni APP, PSEN1 e PSEN2.

I soggetti ricercati sono portatori asintomatici di tali mutazioni, estremamente difficili da trovare perché rari.

Tuttavia Solanezumab non ha mostrato miglioramenti in termini di efficacia, di rallentamento della progressione, in PET e nei biomarcatori fluidi.

Infine l'ultimo studio proposto di fase 3 è A4 (NCT02008357) con lo scopo di rallentare la perdita di memoria in individui beta-amiloide positivi in assenza di sintomi clinici o di demenza, terminerà nei prossimi anni.

GANTENERUMAB

È un anticorpo IgG1 che lega con alta affinità i monomeri, gli oligomeri e le fibrille nella porzione N-Terminale, centrale e C-terminale ²¹⁹, facilitando la rimozione di amiloide tramite la fagocitosi Fc-mediata²²⁰.

Ad oggi è l'unico testato anche per somministrazione sottocutanea.

Ha preso parte allo **studio DIAN-TU e DIAN-TU Master**, insieme a Solanezumab per il rischio di Alzheimer nei casi di mutazione ereditaria, **terminati per mancata efficacia**.

Altri studi come SKYLINE sono terminati precocemente per la mancanza di riscontro tra i dati ottenuti e i dati attesi nelle valutazioni pre-analisi, sia in termini di sicurezza sia di efficacia.

Infine lo studio Scarlet Road (NCT01224106) è terminato per futilità dei risultati²²¹.

Il farmaco ha dimostrato essere in grado di ridurre significativamente le placche di amiloide, misurato tramite PET²²² e la proteina Tau nel CSF, tuttavia senza beneficio nelle funzionalità cognitive. Nonostante sia un risultato disatteso, in quanto le analisi pre-studio individuavano Gantenerumab come molto simile ad Aducanumab e Lecanemab (già approvati), la ricerca sta proseguendo con lo studio DIAN-TU-001 (NCT01760005) per i casi ereditari di patologia.

Dagli studi precedenti sono emersi un gran numero di ARIA, tra cui circa il 28% di ARIA-E e 30% di SAE, quest'ultimo in aumento in dipendenza del dosaggio fino al 36%⁶.

BAPINEUZUMAB

È un anticorpo umanizzato IgG1 ad alta affinità per le fibrille e le placche di β -amiloide nella porzione N-terminale²¹⁷.

Gli studi (NCT00667810 e NCT00676143), dopo **due grandi studi di fase 3, sono terminati per mancanza di beneficio**, senza alcuna preoccupazione circa la sicurezza del farmaco²²³.

Ulteriori due studi di fase 3 (NCT00575055 e NCT00574132) sono stati completati; hanno indagato differenze di effetti avversi in soggetti portatori e non portatori di mutazione ApoE ϵ 4.

È emerso come i portatori di tale mutazione siano più a rischio di sviluppare ARIA-E, i quali sono essi stessi fattori di rischio per ARIA-H.

I medesimi studi hanno evidenziato tramite ¹¹C-PiT-PET la capacità del farmaco di **ridurre l'accumulo fibrillare di beta-amiloide**, tuttavia **senza beneficio clinico**²²⁴.

Sono in corso ulteriori studi di fase 2 (SUMMIT AD NCT01254773) per la valutazione della riduzione di A β misurata tramite PET di Bapineuzumab somministrato sottocute.

DONANEMAB

È l'unico anticorpo IgG1 in grado di legare unicamente le placche di amiloidi nella porzione N-Terminale²²⁵.

TRAILBLAZER-ALZ (NCT03367403) è uno studio di fase 2 completato per la valutazione della sicurezza, tollerabilità ed efficacia di Donanemab in pazienti prodromici di AD. I risultati hanno evidenziato un miglioramento delle funzionalità cognitive, sebbene gli *outcomes* secondari siano risultati confusionari, con rischio di ARIAs e SAE intorno al 20%²²⁶.

Il successivo studio, TRAILBLAZER-ALZ 2 (NCT04437511) di fase 3 ha valutato la sicurezza e l'efficacia del farmaco in pazienti prodromici-lievi di malattia ed in presenza di patologia Tau.

I risultati pubblicati su *JAMA (the Journal of the American Medical Association)*, nel luglio del 2023, sono promettenti, dimostrando una riduzione del 60% del declino cognitivo rispetto placebo, se usato molto precocemente.

Il punto focale di tale studio è risultata la stratificazione della popolazione a seconda del loro livello basale di Tau.

La riduzione dell'84% di beta-amiloide a prescindere dallo stato patologico o clinico del paziente si è dimostrata significativa, mentre il rischio di ARIAs sono risultati coerenti con lo studio precedente.

Parallelamente altri studi, quali TRAILBLAZER-ALZ 4 e TRAILBLAZER-ALZ 6, sono in fase 3. Il primo compara l'attività di Donanemab e di Aducanumab nella clearance di beta-amiloide in pazienti precoci di AD in 6 mesi di trattamento.

Donanemab ha dimostrato ridurre maggiormente il carico di beta-amiloide, quindi le placche, con una ridotta quota di eventi avversi²²⁷.

Mentre TRAILBLAZER-ALZ 6 è attivo e sta analizzando il rischio di ARIA-E in pazienti con sintomi iniziali di malattia per definire le caratteristiche dei partecipanti che potrebbero avere un aumentato rischio di ARIA.

LECANEMAB

Lecanemab è il **secondo anticorpo monoclonale approvato con procedura accelerata nel gennaio 2023 da FDA**, ad oggi convertito in approvazione tradizionale nel giugno 2023⁶.

È un'immunoglobulina umanizzata IgG1 diretta contro la porzione solubile e insolubile degli oligomeri e delle protofibrille di beta-amiloide²²⁸.

Lo studio Clarity AD (NCT03887455) rappresenta la chiave di volta nella terapia dell'Alzheimer. Infatti lo studio ha indagato la superiorità del farmaco rispetto placebo in pazienti precoci per 18 mesi di trattamento²⁰⁸.

I risultati hanno dimostrato una **riduzione del declino cognitivo di circa il 30% in coloro che assumevano Lecanemab, già dopo 6 mesi**, con un miglioramento nella qualità della vita e un ridotto onere sui *caregiver*²²⁹.

Successivamente è stata indagata la quota di effetti avversi, intesi come ARIAs, dichiarando come il farmaco risulti ben tollerato in tutti i pazienti, con una limitazione per i portatori omozigoti del gene ApoEε4.

Infatti FDA raccomanda l'uso del farmaco previa analisi genetica individuale.

Ad oggi il dosaggio raccomandato è di 10mg/kg per somministrazione endovenosa ogni due settimane²¹⁹, tuttavia la stessa ditta produttrice sta investendo in ricerche mirate alla somministrazione sottocute.

Ulteriori trial di fase 3, come AHEAD (NCT04468659), stanno valutando la tollerabilità e l'efficacia di Lecanemab in soggetti preclinici, quindi asintomatici, ma con livelli medi ed elevati di beta-amiloide, misurando la riduzione tramite PET.

Infine lo studio DIAN-TU (NCT05269394), constatato l'effetto anti-beta-amiloide, sta proseguendo la ricerca valutando l'effetto sulla riduzione dei grovigli di proteina Tau in individui con mutazione genica ereditaria.

ADUCANUMAB

È il primo anticorpo monoclonale IgG1 approvato con procedura accelerata nel giugno 2021 per il trattamento di pazienti con Alzheimer lieve o moderato⁶.

Il razionale che portò allo sviluppo di questo farmaco fu quello di ridurre la quantità di amiloide cerebrale per rallentare il declino cognitivo.

Il farmaco lega selettivamente gli aggregati di beta-amiloide, inclusi gli oligomeri solubili e le fibrille insolubili²³⁰, promuovendone la degradazione attraverso l'attivazione della fagocitosi da parte della microglia²³¹, riducendo il carico cerebrale, quindi la neurotossicità.

Inoltre è l'unico anticorpo in grado di interrompere il processo di aggregazione per l'elevata affinità di legame²³².

L'approvazione accelerata fu dovuta al fatto che Aducanumab ha dimostrato di modificare la malattia, sia in termini di *outcomes* clinici sia nei biomarcatori, con un accettabile profilo di sicurezza²³³.

Tuttavia il dibattito circa la sua efficacia rimane ancora acceso, in quanto la significativa riduzione di beta-amiloide non sembra associato ad un miglioramento clinico, nonchè della qualità della vita del paziente⁶.

La storia racconta che nel 2011 cominciò il primo trial in fase 1 con l'obiettivo di valutare la sicurezza, la tollerabilità e la farmacocinetica del farmaco²³⁴.

Nel 2012 iniziò la fase 1b con lo studio PRIME indagando pazienti con moderato declino cognitivo o AD in presenza di elevate quantità di beta-amiloide²³⁵.

Successivamente lo Sponsor fece partire due studi omologhi e contemporanei di fase 3, EMERGE e ENGAGE, poi terminati anticipatamente per futilità dei dati.

Lo studio EMERGE ottenne risultati statisticamente significativi in tutti gli endpoints indagati, sia primari sia secondari, mentre lo studio ENGAGE risultò negativo.

L'approvazione da parte della comunità FDA avvenne per la revisione dei risultati riguardo gli studi PRIME ed EMERGE, tenendo conto della mancanza di standard terapeutici e dell'elevata selettività del farmaco.

Ad oggi gli studi di efficacia clinica su scala globale saranno valutati fino al 2030.

Ulteriori preoccupazioni relative ad Aducanumab riguardano i costi (in US 56,000 dollari per persona l'anno) e la sicurezza²³⁶.

Infatti la somministrazione mensile endovena viene fatta a dosaggi crescenti di farmaco controllando gli ARIAs tramite MRI²³⁵.

Sia in EMERGE sia in ENGAGE lo sviluppo di ARIA-E era elevato (30%) rispetto al placebo, trattandosi tuttavia di episodi della durata di 4-16 settimane, con solo l'1% di severità²³⁷.

Studi suggeriscono che la clearance di amiloide sia responsabile del danno alla parete dei vasi cerebrali con incremento della permeabilità cerebrovascolare e rischio di emorragia^{210,238}.

I dati di ARIAs hanno spinto i ricercatori ad una revisione della decisione di FDA, contraria anche per EMA, basata sul ridotto quantitativo di beta-amiloide, piuttosto che sulla dimostrazione di efficacia clinica.

Tuttavia rimane ad oggi il farmaco più promettente nell'ultima decade circa la riduzione dose e tempo-dipendente di beta-amiloide.

L'evidenza di una non correlazione tra la riduzione di beta-amiloide e i benefici clinici, stanno spingendo la ricerca a non considerare le placche come un valido *end-point* primario.

Il recente studio ENVISION (NCT05310071) in fase 3b/4 ha l'obiettivo di definire il beneficio clinico di dosi mensili di farmaco, ovvero nel rallentare il declino cognitivo e il danno funzionale.

Inoltre la ricerca è spinta anche al confronto tra la somministrazione endovena ed una singola dose sottocute, per agevolare la compliance del paziente, come si nota in uno studio di fase 1 (NCT02782975), il quale sta indagando la biodisponibilità e farmacocinetica delle due somministrazioni in soggetti sani.

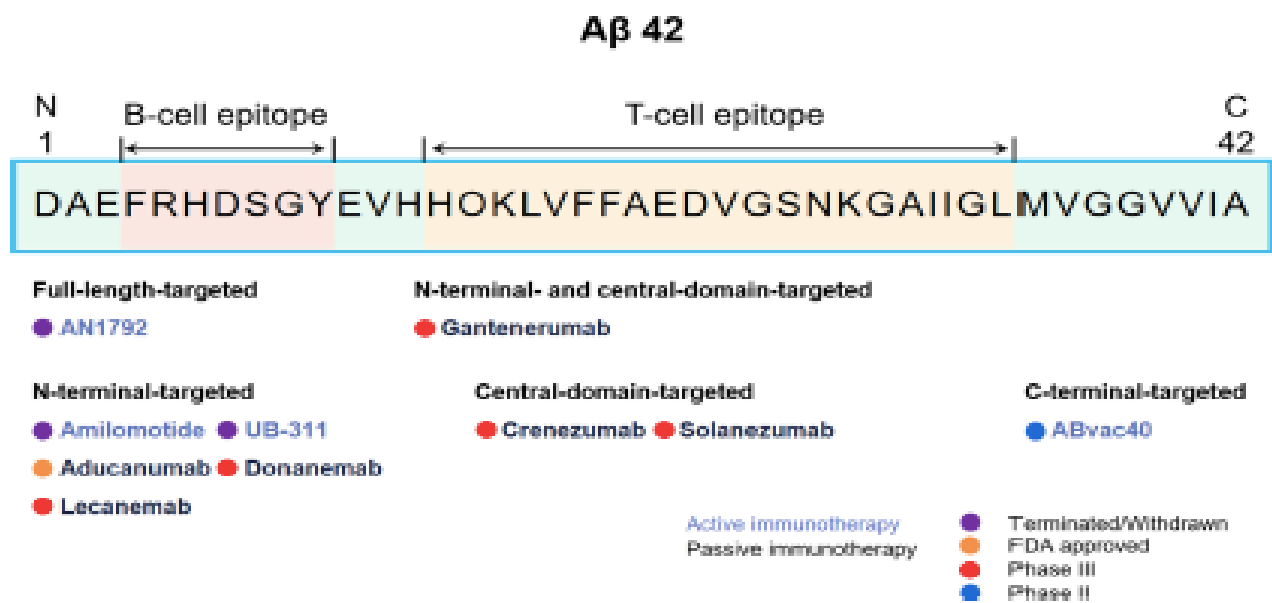


Figura 20 : Strategie di immunoterapia contro la beta-amiloide classificate per meccanismo d'azione, dominio di legame e fase di sviluppo²⁰⁸.

Tabella 2 : Caratteristiche degli anticorpi anti-beta-amiloide (M monomeri, O oligomeri, F fibrille, P protofibrille).

ANTI-AMILOIDE	ISOFORMA	TARGET	SOMMINISTRAZIONE	SITO DI LEGAME
CRENEZUMAB	IgG4 umanizzato	M, O, F	IV, SC	Centrale 13-24
PONEZUMAB	IgG2 δ A umanizzato	M, O, P di A β ₄₀	IV	C- Terminale 30-40
SOLANEZUMAB	IgG1 umanizzato	M	IV	Centrale 16-26
GANTENERUMAB	IgG1 umanizzato	M, O, F	IV, SC	N- Terminale 2-11, Centrale 18-27
BAPINEUZUMAB	IgG1 umanizzato	F, P	IV	N- Terminale 1-5
DONANEMAB	IgG1 umanizzato	P	IV	N- Terminale 3-7
LECANEMAB	IgG1 umanizzato	Aggregati solubili, O, Protofibrille	IV, SC	N- Terminale 1-16
ADUCANUMAB	IgG1 umanizzato	F, P	IV	N- Terminale 3-7

Tabella 3 : Trials disponibili degli anticorpi anti-beta-amiloide

DRUG	TRIAL	FASE	ENDPOINT PRIMARIO	PARTECIPANTI	POPOLAZIONE IN STUDIO	PREMATURE STOP	DATA INIZIO	DATA FINE	SOMMINISTRAZIONE	STATO	RISULTATI
CRENEUZUMAB	NCT03491150/CREADOLE	3	Long-term safety	149	Lieve-Moderato	Mancata efficacia	2018	2019	IV	Terminato	No
	NCT03114657/CREAD2	3	Efficacy (CDR-SB)/Safety	806	Prodromico-Moderato	Si, per futilità	2017	2019	IV	Terminato	No
	NCT02670083/CREAD	3	Efficacy (CDR-SB)/Safety	813	Prodromico-Moderato	Si, per futilità	2016	2019	IV	Terminato	No
PONEZUMAB	NCT00722046	2	Safety (AE, SAE)	198	Lieve-Moderato	No	2008	2011	IV	Completato	Non disponibili
SOLANEZUMAB	NCT04623242/DIANTU	2 e 3	Prevent AD	194	Individui a rischio di mutazione genica	no	2012	2020	IV	Completato	Non disponibili
	NCT02760602/EXPEDITION PRO	3	Safety and Efficacy	26	Prodromico	Si, per futilità	2016	2017	IV	Terminato	No, mancata evidenza di beneficio
	NCT01900665/EXPEDITION 3	3	Slow cognitive decline	2129	Lieve	No	2013	2019	IV	Terminato	No

	NCT00905372/EXPEDITION	3	Efficacy (ADAS)	1000	Lieve-Moderato	No	2009	2012	IV	Completato	No
	NCT00904683/EXPEDITION2	3	Efficacy (ADAS)	1040	Lieve-Moderato	No	2009	2012	IV	Completato	No
	NCT01127633/EXPEDITION EXT	3	Safety and Efficacy	1457		Si, per futilità	2010	2017	IV	Terminato	Non disponibili
	NCT02008357 (A4)	3	Progression memory problems	1169	Rischio perdita di memoria	No	2014	2023	IV	Completato	Non disponibili
	NCT0176005 (DIANTU Master protocol)	2 e 3	DIAN-MCE	490			2012	2027	IV	Recruiting	
GANTEN ERUMAB	NCT05256134/SKYLINE	3	Safety and Efficacy	24	Stadi iniziali o a rischio	Si, per futilità	2022	2023	SC	Terminato	No
	NCT04374253	3	Safety and Efficacy long term	1379	Prodromico-precoce-Moderato	Si, per futilità	2021	2023	SC	Terminato	No
	NCT04339413	3	Long term safety & Tolerability	116	Prodromico-precoce-Moderato	Si, per futilità	2020	2023	SC	Terminato	No

	NCT03443973	3	Efficacy and Safety	982	Precoce	Si, per fertilità	2018	2022	SC	Terminato	No
	NCT03444870	3	Efficacy and Safety	1054	Precoce	Si, per fertilità	2018	2023	SC	Terminato	No
	NCT02051608	3	Efficacy and Safety	389	Lieve	No	2014	2021	SC	Completato	Non disponibili
	NCT01224106/Scarlet Road	3	Efficacy and Safety	799	Prodromico	No	2010	2020	SC	Completato	No
BAPINEU ZUMAB	NCT00667810	3	Efficacy and Safety	901	Lieve-Moderato	Si	2008	2013	IV	Terminato	No, mancato beneficio nei protocolli precedenti
	NCT00676143	3	Safety and Efficacy in multiple dose	1100	Lieve-Moderato	Si	2008	2012	IV	Terminato	No, mancato beneficio nei protocolli precedenti
	NCT00937352	3	Long-term safety	896	Lieve-Moderato	Si, per fertilità	2009	2012	IV	Terminato	No

	NCT00996918	3	Long-term safety	198	Lieve-Moderato	Si	2009	2012	IV	Terminato	No, mancata evidenza di beneficio nei protocolli precedenti
	NCT00998764	3	Long-term safety	494	Lieve-Moderato	si	2009	2012	IV	Terminato	No, mancata evidenza di beneficio nei protocolli precedenti
	NCT00575055	3	ApoE4 Carrier	1121	Lieve-Moderato	No	2007	2012	IV	Completato	No
	NCT00574132	3	ApoE4 Non-Carrier	1331	Lieve-Moderato	No	2007	2012	IV	Completato	No
DONANE MAB	NCT05026866/TRAILBLAZER-ALZ-3	3	Safety and Efficacy	2600	Preclinici		2021	2027	IV	Recruiting	
	NCT04437511/TRAILBLAZER-ALZ-2	3	Efficacy and safety	1800	Precoce		2020	2025	IV	Active, not recruiting	

	NCT05108922/TRAILBLAZER-ALZ-4	3	Paragone con Aducanumab	148	Prodromico		2021	2023	IV	Completato	Si
	NCT05508789/TRAILBLAZER-ALZ-5	3	Efficacy and Safety	1500	Prodromico-Lieve		2022	2027	IV	Recruiting	
	NCT05738486/TRAILBLAZER-ALZ-6	3	ARIA-E and Efficacy of different dose	800	Precoce		2023	2025	IV	Recruiting	
	NCT03367403/TRAILBLAZER-ALZ	2	Efficacy and Safety	272	Precoce		2017	2021	IV	Completato	No
LECANE MAB	NCT05269394/DIAN-TU	2 e 3	Tau PET reduction	168	Genetici		2021	2027	IV	Recruiting	
	NCT03887455/CLARITY AD	3	Efficacy and Safety	1906	Precoce		2019	2027	IV	Active, not recruiting	Si
	NCT04468659/AHEAD	3	Efficacy and Safety	1400	Preclinical & elevated amyloid		2020	2027	IV	Recruiting	\
ADUCANUMAB	NCT02484547/EMERGE	3	Efficacy	1643	Precoce	Si, per futilità	2015	2019	IV	Terminato	No

NCT02477800/ENGAGE	3	Efficacy	1653	Precoce	Si, per futilità	2015	2019	IV	Terminato	No
NCT05310071/ENVISION	3b/4	Clinical Benefit	1512	Precoce		2022	2025	IV	Recruiting	\
NCT02782975	1	Biodisponibilità	28	Sani		2016	2016	SC	Completato	Non disponibili

7.2 IMMUNOTERAPIA BASATA SULLA PROTEINA TAU

Il secondo segno distintivo della malattia è rappresentato dai grovigli neurofibrillari di proteina Tau iperfosforilata. Tale modifica della proteina impedisce la sua funzione principale di stabilizzazione dei microtubuli e favorisce la sua aggregazione.

La presenza di patologie correlate a Tau sembra essere intimamente associato con la severità del declino cognitivo nell'Alzheimer.

Le tre principali strategie terapeutiche hanno l'obiettivo di prevenire la fosforilazione anomala, inibire l'aggregazione o favorire la clearance della proteina (**Figura 21**).

7.2.1 IMMUNOTERAPIA ATTIVA: Vaccini

Il meccanismo farmacologico dei vaccini (**Tab. 4**) prevede la somministrazione di proteina Tau fosforilata o non fosforilata in grado di attivare il sistema immunitario del paziente alla produzione di anticorpi endogeni contro Tau²³⁹.

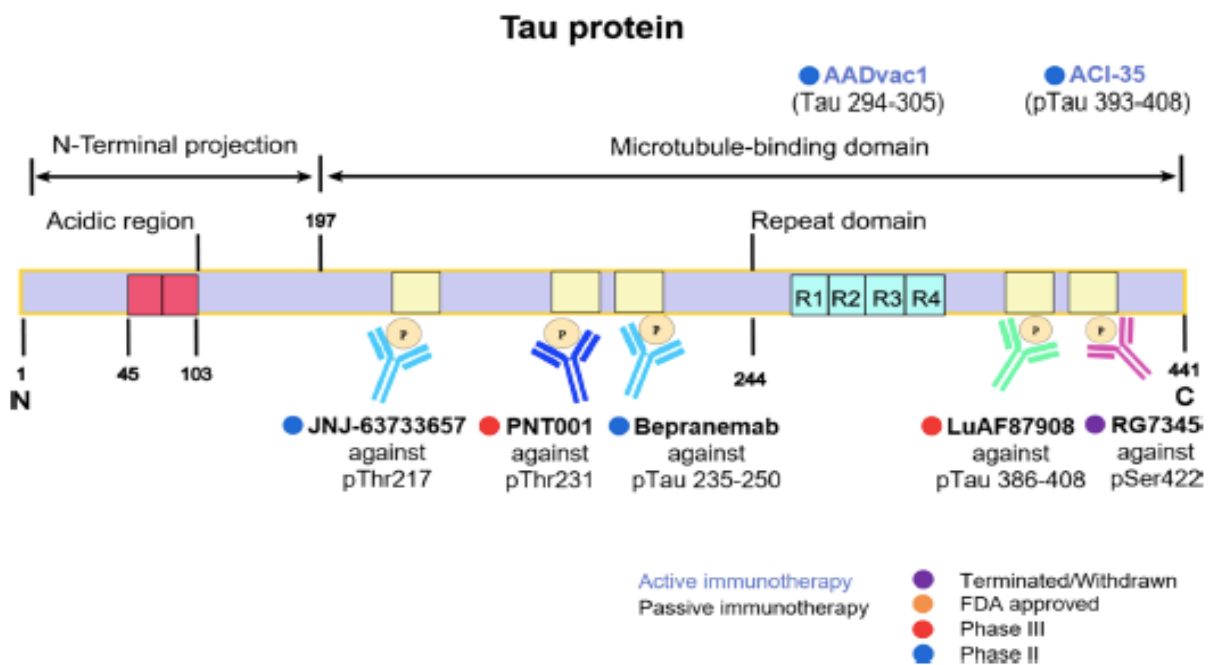


Figura 21 : Strategie di immunoterapia con target la proteina Tau, inclusi vaccini e anticorpi umanizzati, basati sul loro sito di legame²⁰⁸.

AADVAac1 è il primo vaccino anti-Tau ad essere stato sviluppato, in grado di legare una sequenza di 12 aminoacidi nella regione di legame ai microtubuli della proteina Tau²⁰⁸. Ha evidenziato un favorevole profilo di sicurezza ed eccellente immunogenicità, tuttavia ulteriori studi sono necessari per la valutazione della sicurezza e dell'efficacia clinica.

Successivamente è stato sviluppato e completato lo studio ADAMANT (NCT02579252), di fase 2, tuttavia i risultati non sono ancora disponibili.

ACI-35 è costituito da 16 copie di proteina Tau sintetica in grado di riconoscere i residui S396 e S404 di Tau iperfosforilata²⁰⁸.

L'unico studio presente di fase 1-2 per i pazienti precoci di Alzheimer (NCT04445831; Finlandia) è recentissimo. Ha dimostrato avere una grande specificità per il target con un incremento nella produzione di anticorpi specifici anti-Tau e contro i grovigli neurofibrillari, mentre la sicurezza non ha dimostrato preoccupazioni.

Tabella 4 : Trials clinici dei vaccini anti-Tau

Vaccini anti-Tau	TRIAL	FASE	ENDPOINT PRIMARIO	PARTECIPANTI	DATA INIZIO	DATA FINE	STATO
AADVac1	NCT02031198	1	Safety	25	2014	2016	Completato
	NCT02579252/ ADAMANT	2	Safety & Efficacy	208	2016	2019	Completato
ACI-35	NCT04445831	1 e 2	Safety, Tolerability & Immunogenicity	57	2019	2023	Completato

7.2.2 IMMUNOTERAPIA PASSIVA: Anticorpi monoclonali anti-Tau

Gli anticorpi monoclonali anti-Tau (**Tab. 5**) sono in grado di riconoscere differenti siti della proteina. Risultano meno a rischio di immunogenicità perché legano con grande specificità gli epitopi target.

Tali anticorpi hanno dimostrato essere in grado di entrare nei neuroni per legare a recettori di membrana o per endocitosi²⁴⁰ per poter effettuare la loro funzione.

La difficoltà nella ricerca (**Tab. 6**) di tali anticorpi è insita nell'inibizione della diffusione di Tau dalle cellule, non della loro entrata nella cellula.

SEMORINEMAB

È un anticorpo umanizzato IgG4 in grado di legare la porzione N-terminale 6-23 di tutte le sei isoforme di Tau, sia iperfosforilata, sia oligomerizzata, con alta affinità e specificità²⁴¹.

Entrambi gli studi di fase 2, nonostante l'accettabile profilo di sicurezza e la buona tollerabilità, non hanno mostrato **alcun rallentamento della progressione cognitiva in pazienti prodromici**²⁴².

GOSURANEMAB

È un anticorpo umanizzato IgG4 che lega la porzione N-Terminale dell'isoforma extracellulare di tau⁶.

L'unico studio disponibile, **TANGO (NCT03352557) di fase 2, è terminato per mancanza di efficacia rispetto placebo.**

TILAVONEMAB

È un anticorpo IgG4 in grado di legare gli aggregati solubili e insolubili delle isoforme extracellulari di Tau nella porzione N-Terminale²⁴³.

I trial hanno fallito nel dimostrare efficacia clinica perciò sono stati interrotti.

ZAGOTENEMAB

È un anticorpo IgG1 che lega specificatamente i grovigli neurofibrillari di Tau nella porzione N-Terminale⁶. L'unico studio per pazienti precoci e sintomatici di Alzheimer di fase è stato completato, non ha dimostrato problemi significativi circa la sicurezza, tuttavia **la mancanza di efficacia clinica ne ha ostacolato il continuo.**

BEPRANEMAB

È un anticorpo IgG4 che lega la regione centrale di tau, nello specifico i residui aminoacidici 235-250, che sembra in grado di interferire con la diffusione tra cellule degli aggregati di Tau⁶.

Un unico studio di fase 2 è attivo per valutare la sicurezza, la tollerabilità e l'efficacia del farmaco nei pazienti con malattia lieve (NCT04867616).

Tabella 5 : Caratteristiche degli anticorpi anti-Tau

DRUG	ISOFORMA	SOMMINISTRAZIONE	SITO DI LEGAME
SEMORINEMAB	IgG4 umanizzato	IV	N- Terminale 6-23
GOSURANEMAB	IgG4 umanizzato	IV	N- Terminale 15-24
TILAVONEMAB	IgG4 umanizzato	IV	N- Terminale 25-30
ZAGOTENEMAB	IgG1 umanizzato	IV	N- Terminale 7-9
BEPRANEMAB	IgG4 umanizzato	IV	Centrale 235-250

Tabella 6 : Trials disponibili degli anticorpi anti-Tau

DRUG	TRIAL	FA SE	ENDPOINT primario	PARTECI PANTI	POPOLAZIONE IN STUDIO	PREMATUR E STOP	DATA INIZIO	DATA FINE	SOMMINISTR AZIONE	STATO
SEMORIN EMAB	NCT03828747	2	Safety & Efficacy	272	Moderato	No	2019	2023	IV	Completato
	NCT03289143	2	Safety & Efficacy	457	Prodromico/ Lieve	Si, per futilità	2017	2021	IV	Terminato, mancata efficacia
GOSURAN EMAB	NCT03352557	2	Safety & Tolerability	654	Precoce	Si, per futilità	2018	2021	IV	Terminato, mancata efficacia
	/TANGO									
TILAVONE MAB	NCT03712787	2	Long term safety % tolerability	364	Precoce	Si, per futilità	2019	2021	IV	Terminato, mancata efficacia
	NCT02880956	2	Safety & Efficacy	453	Precoce	No	2017	2021	IV	Completato
ZAGOTEN EMAB	NCT03518073	2	Safety & Efficacy	360	Precoce sintomatico	No	2018	2021	IV	Completato
BEPRANE MAB	NCT04867616	2	Safety, Tolerability & Efficacy	421	MCI o Lieve		2021	2025	IV	Active, not recruiting

7.3 ALTRI APPROCCI TERAPEUTICI

7.3.1 ESTRATTI NATURALI

Il sistema nervoso centrale è un organo metabolicamente attivo che necessita di elevate quantità di ossigeno O₂ per il suo corretto funzionamento, motivo per cui possono avvenire reazioni neurochimiche in grado di produrre specie reattive dell'ossigeno che risultano dannose, nonché concausa di disturbi neurodegenerativi, come l'Alzheimer⁷⁷.

Negli scorsi anni la ricerca ha indagato il ruolo neuroprotettivo di alcune molecole naturali che presentano proprietà antiossidanti, antiinfiammatorie, antiferroptosi, antiaggreganti e antiapoptotiche²⁴⁴.

Tra gli estratti fitoterapici di maggiore interesse si ritrova la *Curcuma Longa*, la quale contiene la curcumina e i suoi derivati.

La curcumina è in grado di legare con alta affinità ed inibire l'aggregazione di beta-amiloide, di proteina Tau e l'accumulo di acetilcolinesterasi, inoltre modula l'attivazione delle microglia e l'attività antiossidante di molti enzimi ossidanti come il glutatione e la catalasi²⁴⁵.

La curcumina inoltre promuove la neurogenesi, diminuisce la secrezione di citochine proinfiammatorie per ridotta regolazione di fattori di trascrizione come NF-kB²⁴⁴.

Tuttavia è una molecola chimicamente instabile, di natura idrofobica e con limitata biodisponibilità orale oltre che a rapida eliminazione, motivazioni che riducono la diffusione attraverso la barriera emato-encefalica, restringendo il suo effetto terapeutico per somministrazione orale²⁴⁶.

Strategie per incrementarne la permeabilità sono l'incapsulazione in nanomateriale lipidico o il legame a carrier lipidici o metallici. Tuttavia la ricerca sul *delivery* della curcumina è limitato, nonostante i suoi effetti promettenti nel campo dell'Alzheimer²⁴⁵.

La vitamina C è un nutriente essenziale coinvolto nella sintesi di collagene e nella rimozione delle specie reattive dell'ossigeno. Deficienza di acido ascorbico sembra compromettere le funzioni cognitive, aumentare il deposito di beta-amiloide e incrementare lo stress ossidativo²⁴⁴.

L'estratto di *Ginkgo Biloba* contiene molti flavonoidi, lattoni terpeni ed altre molecole quali glucosio e proantocianidine che hanno dimostrato migliorare significativamente le funzioni cognitive e la capacità di sviluppare le normali azioni quotidiane, mantenendo una buona tollerabilità²⁴⁴.

Il melograno contiene elevate quantità di composti polifenolici, tra cui antocianine, catechine e acido gallico che possiedono proprietà antiinfiammatorie, antiossidanti, antiipertensive e antiaterogeniche sia *in vitro* sia nei modelli *in vivo*²⁴⁷.

Nello specifico gli ellagitannini sembrano avere un effetto neuroprotettivo e anti-apoptotico²⁴⁴. Il resveratrolo come le catechine contenute nel tè verde hanno proprietà antiossidanti e antiinfiammatorie con un ruolo clinico nei disturbi del SNC.

Il tè verde nello specifico contiene quattro molecole naturali coi maggiori effetti antiossidanti, quali le epicatechine, le gallocatechine, le epigallocatechin gallate e le epicatechine-3-gallate²⁴⁸.

Tuttavia i risultati negativi degli studi che usano estratti naturali sono riconducibili alla difficoltà di raggiungere la barriera emato-encefalica, nonché il *delivery* in specifiche regioni cerebrali.

Inoltre la suscettibilità all'ossidazione, la rapida degradazione e la ridotta biodisponibilità sono le maggiori limitazioni riguardo il loro utilizzo in forma libera²⁴⁴.

Ciò che dovrebbe essere rivisto riguarda l'uso di somministrazioni alternative per valicare tali ostacoli al fine di promuovere l'accumulo cerebrale.

7.3.2 LA MUSICA COME TERAPIA ALTERNATIVA:

La musica rientra nel complesso piano di cure non farmacologiche e non convenzionali per migliorare la qualità della vita nei pazienti di AD. Nello specifico sono stati descritti effetti benefici per coloro che soffrono di mancata motivazione, ansia, agitazione, aggressività e difficoltà di linguaggio²⁴⁹. La musica rilassante è in grado di abbassare i livelli di colesterolo con una riduzione dell'ansia, dei sintomi non cognitivi e della depressione, migliorando così le relazioni e l'espressione delle emozioni, nonostante il progressivo declino della malattia⁵.

Insieme alla musica, anche l'arte rientra nelle misure terapeutiche generali che dovrebbero aiutare a rallentare il danno cognitivo, mantenere il controllo funzionale e migliorare la qualità della vita nei pazienti²⁵⁰. L'espressione delle proprie emozioni positive attraverso la riscoperta o la reminiscenza delle capacità perdute tramite il disegno e il dipinto sembra promuovere il benessere mentale del paziente^{250,251}.

CAPITOLO 8: CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE

Al momento lo standard terapeutico è rappresentato dal trattamento sintomatico e dall'utilizzo di due anticorpi monoclonali approvati unicamente da FDA con obiettivo di ridurre le placche. Tuttavia sono numerosi i problemi relativi all'immunoterapia, come il *delivery* del farmaco al SNC, gli effetti avversi, i costi e il reclutamento dei soggetti idonei da trattare al momento giusto²⁵². La necessità di agire il prima possibile rappresenta un fattore determinante per l'efficacia della terapia, in quanto la presenza di malattia conclamata è già indice di elevata morte neuronale.

Il sospetto è che molti trials siano falliti per un'inadeguata caratterizzazione dello stadio clinico della malattia⁶; di conseguenza risulta necessario ridefinirne la neuro-evoluzione, basata sia sul fenotipo clinico sia neuropatologico, separandoli a seconda dei sottotipi in accordo con i biomarcatori presenti e le indagini PET²⁵³.

Per quanto riguarda il target farmacologico le placche di beta-amiloide sono sempre state considerate il segno distintivo e caratteristico della patologia di Alzheimer con la successiva formazione di aggregati neurofibrillari di proteina Tau e conseguente eccitotossicità.

Infatti, l'interesse nei confronti di beta-amiloide e di Tau non ha coinvolto solo l'immunoterapia ma anche piccole molecole organiche come Simufilam²⁵⁴ e ALZ-801²⁵⁵, ormai in fase 3, in grado di diminuire il carico di amiloide e di ridurre l'aggregazione, oppure LY3372689²⁵⁶ che può inibire la glicosilazione di Tau.

Nonostante questo, i numerosi fallimenti e le incertezze legate alla clearance di amiloide e alla proteina Tau hanno spinto i ricercatori a rivedere i bersagli terapeutici focalizzando l'attenzione su aspetti diversi della malattia⁶.

Dal 2019 la validità dell'ipotesi di amiloide, infatti, è stata messa in discussione, portando alla riduzione nell'interesse con conseguente diminuzione dei trial²⁵².

Ad oggi i numerosi studi di fase 3 riflettono l'interesse suscitato negli anni precedenti dalla beta-amiloide (**Figura 22**), mentre le fasi 2 (**Figura 23**) sono improntate su farmaci in grado di potenziare le abilità cognitive, favorire la neuroprotezione e l'azione anti-neuroinfiammatoria²⁵².

Al tempo stesso ulteriori studi di fase 1 (**Figura 23**) sono iniziati prendendo in considerazione target multipli, quindi con l'ambizione di ricercare farmaci con meccanismo sinergico anti-beta-amiloide e anti-tau.

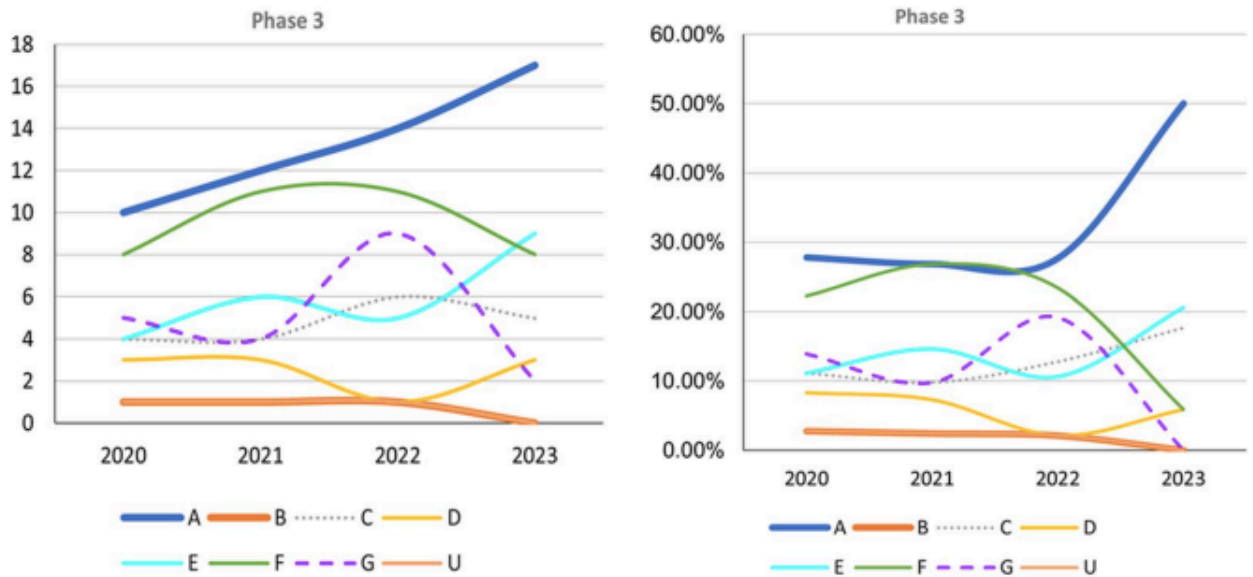


Figura 22 : Trends dei trials in fase 3, 2020-2023. Numero dei trials in fase 3 (*sinistra*), percentuale dei trials in fase 3 (*destra*). A) terapia anti-amiloide, B) terapia anti-tau, C) neuroprotettivi, D) antiinfiammatori, E) potenziatori cognitivi, F) sollievo dai sintomi psicologici comportamentali della demenza, G) altri, U) non rivelati²⁵².

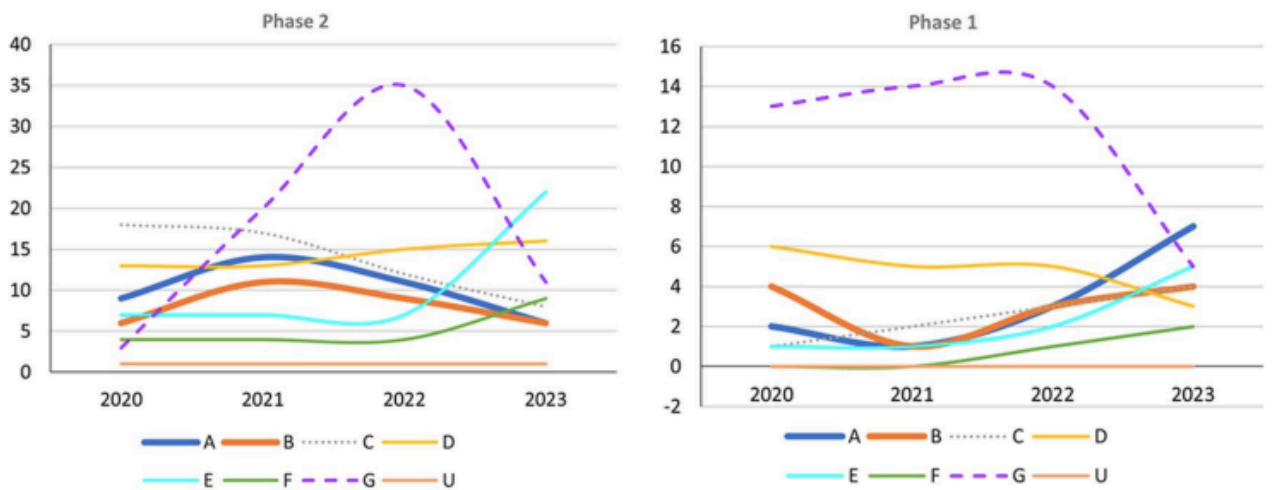


Figura 23 : Trends dei trials di fase 2 (*sinistra*) e di fase 1 (*destra*) 2020-2023. A) terapia anti-amiloide, B) terapia anti-tau, C) neuroprotettivi, D) antiinfiammatori, E) potenziatori cognitivi, F) sollievo dai sintomi psicologici comportamentali della demenza, G) altri, U) non rivelati²⁵².

Parallelamente all'approccio immunoterapico sono attivi numerosi nuovi studi di fase 3 e di fase 4 (**Tab. 7 e Tab.8**) con l'obiettivo invece di indagare e modulare la neuroinfiammazione

indotta, potenziare la cognizione e ridurre i sintomi comportamentali associati, quali l'ansia, l'agitazione e la depressione.

Tabella 7 : Farmaci attualmente in fase 4 con target terapeutici correlati ai sintomi psicologici e comportamentali dell'Alzheimer.²⁵².

Agent	Mechanism of action	Target type and therapeutic purpose	ClinicalTrials.gov identifier	Status
Escitalopram Oxalate	Selective-serotonin reuptake inhibitor	Neuropsychiatric symptoms (depression)	NCT05004987	Recruiting
Sodium Oligomannate Capsule (GV-971)	Neuroinflammation inhibitor, A β fibril formation inhibitor	Anti-neuroinflammation, amyloid-related	NCT05181475	ACTIVE, NOT RECRUITING
			NCT05430867	Not yet recruiting
Spironolactone	Aldosterone mineralocorticoid receptor antagonist	Anti-neuroinflammation	NCT04522739	Recruiting

Tabella 8 : Farmaci attualmente in fase 3, oltre l'immunoterapia²⁵².

Agent	Mechanism of action	Target type and therapeutic purpose	ClinicalTrials.gov identifier	Status
ATH-1017 (fosgonimeton)	Enhance the activity of hepatocyte growth factor and its receptor	Neuroprotective; disease-modifying therapy	NCT04488419	Recruiting
AR1001	Inhibit phosphodiesterase 5 protein	Cognitive enhancer	NCT05531526	Recruiting
BPDO-1603	Undisclosed	Cognitive enhancer	NCT04229927	Unknown
Buntanetap	Suppress the translation of the mRNAs of neurotoxic aggregating proteins	Neuroprotective	NCT05686044 (Phase 2/3)	Not yet recruiting
Caffeine	Antagonist of adenosine receptors	Cognitive enhancer	NCT04570085	Recruiting
Hydralazine hydrochloride	(1) Activate the Nrf2 pathway, (2) rejuvenate mitochondria, (3) activate autophagy	Neuroprotective	NCT04842552	Recruiting
KarXT(xanomeline-trospium)	Muscarinic receptor agonist	Cognitive enhancer	NCT05511363	Recruiting
Masitinib	Tyrosine kinase inhibitor	Anti-inflammatory	NCT05564169	Recruiting
Masupirdine	Selective 5-HT ₆ receptor antagonist	Neuropsychiatric symptom (agitation)	NCT05397639	Recruiting
Metformin	Antidiabetic	Cognitive enhancer	NCT04098666 (Phase 2/3)	Recruiting
Nabilone	Partial agonist of cannabinoid receptor 1 & 2	Neuropsychiatric symptom (agitation)	NCT04516057	Recruiting
NE3107	Blood-brain permeable anti-inflammatory insulin sensitizer that binds ERK	Anti-inflammatory	NCT04669028	Active, not recruiting
Nilotinib	Tyrosine kinase inhibitor	Neuroprotection	NCT05143528	Not yet recruiting
Piromelatine	Melatonin MT ₁ and serotonin 5-HT-1A JanD receptor agonist	Cognitive enhancer	NCT05267535 (Phase 2/3)	Recruiting
Semaglutide	Synthetic, long-acting analog of glucagon-like peptide-1	Neuroprotection	NCT04777396	Active, not recruiting
			NCT04777409	Active, not recruiting
Tricaprilin	Semisynthetic medium-chain triglyceride; alternative energy substrate for the brain	Cognitive enhancer	NCT04187547	Enrolling by invitation

ERK Extracellular signal-regulated kinase

8.1 LA PROSPETTIVA ITALIANA

Negli ultimi 10 anni la ricerca italiana per l'Alzheimer ha preso parte ad estesi studi multicentrici di fase 3 per la valutazione della sicurezza, della tollerabilità e dell'efficacia a lungo termine di Bapineuzumab, stratificando per portatori di mutazione ApoEε4 e non portatori; tuttavia terminati per mancata efficacia clinica, senza ulteriori rischi rispetto alla sicurezza del farmaco.

MK-1942 è un ulteriore studio di efficacia e di sicurezza di fase 2a/2b del farmaco come terapia aggiuntiva nei casi di demenza lieve e moderata, ora in corso la valutazione del rapporto rischio-beneficio.

Inoltre l'Italia ha preso parte ad un importante progetto definito “*Interceptor*”, finanziato dal Ministero della Salute e da AIFA della durata di 5 anni.

Il monitoraggio ha coinvolto oltre 350 soggetti con una forma molto iniziale di declino cognitivo.

Dopo misurazione dei biomarcatori del sangue, del *liquor*, test neuropsicologici e le PET, nel corso del *follow-up* sono stati individuati meno di 100 individui che hanno sviluppato la malattia.

La sfida consisterà nel comprendere quale sia la combinazione di biomarcatori in grado di prevedere con maggiore accuratezza l'eventuale progressione dei sintomi.

L'obiettivo è quello di intercettare molto precocemente la malattia e concentrare su tali pazienti tutti gli sforzi terapeutici disponibili, in quanto l'efficacia è tanto maggiore quanto prima vengono trattati.

8.2 UNO SGUARDO AL FUTURO: Intelligenza Artificiale

L'avvento dell'intelligenza artificiale (AI) applicata all'Alzheimer si sta dimostrando uno strumento di rilevante importanza per l'identificazione, la classificazione, la diagnosi e il riconoscimento tramite PET della malattia²⁵⁷.

L'AI rappresenta un vero e proprio sistema che potrà essere utilizzato nella diagnosi precoce, in grado di catturare i sottili cambiamenti nella voce e nel linguaggio di un paziente affetto da Alzheimer²⁵⁸.

È uno strumento ambizioso che porterà notevoli vantaggi sia nella scoperta sia nello sviluppo di nuove molecole.

Dopotutto il ciclo tradizionale di ricerca di nuovi farmaci prevede tempi lunghi, alti costi e bassa resa, mentre l'AI è in grado di ridurre drasticamente le tempistiche rivelandosi una notevole risorsa nel *drug design*²⁵⁹.

Inoltre l'intelligenza artificiale riesce a mettere in luce molte relazioni complesse e multifattoriali non lineari tra i dati clinici dei pazienti e il loro stato neuropatologico, è in grado di predire i pazienti a rischio di malattia e di valutarne la severità, nonché la prognosi²⁵⁸.

Bibliografia

1. Qiu C, Kivipelto M, Von Strauss E. Epidemiology of Alzheimer's disease: Occurrence, determinants, and strategies toward intervention. *Dialogues Clin Neurosci.* 2009;11(2):111-128. doi:10.31887/dcns.2009.11.2/cqiu
2. Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, et al. Alzheimer's disease. *The Lancet.* 2021;397(10284):1577-1590. doi:10.1016/S0140-6736(20)32205-4
3. Rhodius-Meester HFM, Tijms BM, Lemstra AW, et al. Survival in memory clinic cohort is short, even in young-onset dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2019;90(6):726-728. doi:10.1136/jnnp-2018-318820
4. Stelzmann RA, Norman Schnitzlein H, Reed Murtagh F. An english translation of alzheimer's 1907 paper, "über eine eigenartige erkankung der hirnrinde." *Clinical Anatomy.* 1995;8(6):429-431. doi:10.1002/ca.980080612
5. Popa LC, Manea MC, Velcea D, Manea M, Ciobanu AM, Carswell C. healthcare Impact of Alzheimer's Dementia on Caregivers and Quality Improvement through Art and Music Therapy. Published online 2021. doi:10.3390/healthcare
6. Esquer A, Blanc F, Collongues N. Immunotherapies Targeting Amyloid and Tau Protein in Alzheimer's Disease: Should We Move Away from Diseases and Focus on Biological Targets? A Systematic Review and Expert Opinion. *Neurol Ther.* Published online 2023. doi:10.1007/s40120-023-00541-1
7. Piekut T, Hurla M, Banaszek N, et al. Infectious agents and Alzheimer's disease. *J Integr Neurosci.* 2022;21(2). doi:10.31083/j.jin2102073
8. Dhapola R, Hota SS, Sarma P, Bhattacharyya A, Medhi B, Reddy DHK. Recent advances in molecular pathways and therapeutic implications targeting neuroinflammation for Alzheimer's disease. *Inflammopharmacology.* 2021;29(6):1669-1681. doi:10.1007/s10787-021-00889-6
9. Sehar U, Rawat P, Reddy AP, Kopel J, Reddy PH. Amyloid Beta in Aging and Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci.* 2022;23(21). doi:10.3390/ijms232112924
10. Johnson GVW, Bailey CDC. The p38 MAP kinase signaling pathway in Alzheimer's disease. *Exp Neurol.* 2003;183(2):263-268. doi:10.1016/S0014-4886(03)00268-1
11. Tackenberg C, Nitsch RM. The secreted APP ectodomain sAPP α , but not sAPP β , protects neurons against A β oligomer-induced dendritic spine loss and increased tau phosphorylation. *Mol Brain.* 2019;12(1). doi:10.1186/s13041-019-0447-2

12. Puzzo D, Privitera L, Leznik E, et al. Picomolar amyloid- β positively modulates synaptic plasticity and memory in hippocampus. *Journal of Neuroscience*. 2008;28(53):14537-14545. doi:10.1523/JNEUROSCI.2692-08.2008
13. Knopman DS, Amieva H, Petersen RC, et al. Alzheimer disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2021;7(1). doi:10.1038/s41572-021-00269-y
14. van Oostveen WM, de Lange ECM. Imaging techniques in alzheimer's disease: A review of applications in early diagnosis and longitudinal monitoring. *Int J Mol Sci*. 2021;22(4):1-34. doi:10.3390/ijms22042110
15. Kummer MP, Heneka MT. *Truncated and Modified Amyloid-Beta Species*. <http://alzres.com/content/6/3/28>
16. Carrillo-Mora P, Luna R, Colín-Barenque L. Amyloid beta: Multiple mechanisms of toxicity and only some protective effects? *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014. doi:10.1155/2014/795375
17. Grimm MOW, Grimm HS, Pätzold AJ, et al. Regulation of cholesterol and sphingomyelin metabolism by amyloid- β and presenilin. *Nat Cell Biol*. 2005;7(11):1118-1123. doi:10.1038/ncb1313
18. John A, Reddy PH. Synaptic basis of Alzheimer's disease: Focus on synaptic amyloid beta, P-tau and mitochondria. *Ageing Res Rev*. 2021;65. doi:10.1016/j.arr.2020.101208
19. Spuch C, Ortolano S, Navarro C. New insights in the amyloid-beta interaction with mitochondria. *J Aging Res*. 2012;2012. doi:10.1155/2012/324968
20. Yin T, Yao W, Lemenze AD, D'Adamio L. Danish and British dementia ITM2b/BRI2 mutations reduce BRI2 protein stability and impair glutamatergic synaptic transmission. *Journal of Biological Chemistry*. 2021;296. doi:10.1074/jbc.RA120.015679
21. Šimić G, Babić Leko M, Wray S, et al. Tau protein hyperphosphorylation and aggregation in alzheimer's disease and other tauopathies, and possible neuroprotective strategies. *Biomolecules*. 2016;6(1):2-28. doi:10.3390/biom6010006
22. Wischik CM, Crowther RA, Stewart M, Roth M. *Subunit Structure of Alzheimer's Disease Paired Helical Filaments In*. <http://rupress.org/jcb/article-pdf/100/6/1905/1457859/1905.pdf>
23. Crowther RA. *Straight and Paired Helical Filaments in Alzheimer Disease Have a Common Structural Unit (neurofibrillary Tangles/Neuropathology/Antibody Labeling/Electron Microscopy/Image Processing)*. Vol 88.; 1991. <https://www.pnas.org>
24. Morris M, Maeda S, Vossel K, Mucke L. The Many Faces of Tau. *Neuron*. 2011;70(3):410-426. doi:10.1016/j.neuron.2011.04.009

25. Buee L, Bussiere T, Buee-Scherrer V, Delacourte A, Hof PR. *Tau Protein Isoforms, Phosphorylation and Role in Neurodegenerative Disorders*. Vol 33.; 2000. www.elsevier.com/locate/bres
26. Metaxas A, Kempf SJ. Neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease: Elucidation of the molecular mechanism by immunohistochemistry and tau protein phospho-proteomics. *Neural Regen Res*. 2016;11(10):1579-1581. doi:10.4103/1673-5374.193234
27. Krishnan S, Shrestha Y, Jayatunga DPW, Rea S, Martins R, Bharadwaj P. Activate or inhibit? Implications of autophagy modulation as a therapeutic strategy for alzheimer's disease. *Int J Mol Sci*. 2020;21(18):1-19. doi:10.3390/ijms21186739
28. Samiei E, Seyfoori A, Toyota B, Ghavami S, Akbari M. Investigating programmed cell death and tumor invasion in a three-dimensional (3d) microfluidic model of glioblastoma. *Int J Mol Sci*. 2020;21(9). doi:10.3390/ijms21093162
29. Eshraghi M, Adlimoghaddam A, Mahmoodzadeh A, et al. Alzheimer's disease pathogenesis: Role of autophagy and mitophagy focusing in microglia. *Int J Mol Sci*. 2021;22(7). doi:10.3390/ijms22073330
30. Glick D, Barth S, Macleod KF. Autophagy: Cellular and molecular mechanisms. *Journal of Pathology*. 2010;221(1):3-12. doi:10.1002/path.2697
31. Reddy PH, Oliver DMA. Amyloid beta and phosphorylated tau-induced defective autophagy and mitophagy in alzheimer's disease. *Cells*. 2019;8(5). doi:10.3390/cells8050488
32. Fang EF, Hou Y, Palikaras K, et al. Mitophagy inhibits amyloid- β and tau pathology and reverses cognitive deficits in models of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci*. 2019;22(3):401-412. doi:10.1038/s41593-018-0332-9
33. Wang C, Zong S, Cui X, et al. The effects of microglia-associated neuroinflammation on Alzheimer's disease. *Front Immunol*. 2023;14. doi:10.3389/fimmu.2023.1117172
34. Merighi S, Nigro M, Travagli A, Gessi S. Microglia and Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci*. 2022;23(21). doi:10.3390/ijms232112990
35. Wang Y, Ulland TK, Ulrich JD, et al. TREM2-mediated early microglial response limits diffusion and toxicity of amyloid plaques. *Journal of Experimental Medicine*. 2016;213(5):667-675. doi:10.1084/jem.20151948
36. Lian H, Yang L, Cole A, et al. NF κ B-Activated Astroglial Release of Complement C3 Compromises Neuronal Morphology and Function Associated with Alzheimer's Disease. *Neuron*. 2015;85(1):101-115. doi:10.1016/j.neuron.2014.11.018

37. Edison P, Donat CK, Sastre M. In vivo imaging of glial activation in alzheimer's disease. *Front Neurol*. 2018;9(AUG). doi:10.3389/fneur.2018.00625
38. Kreisl WC, Kim MJ, Coughlin JM, Henter ID, Owen DR, Innis RB. PET imaging of neuroinflammation in neurological disorders. *Lancet Neurol*. 2020;19(11):940-950. doi:10.1016/S1474-4422(20)30346-X
39. *Alzheimer's Disease: Drug Discovery*. Exon Publications; 2020. doi:10.36255/exonpublications.alzheimersdisease.2020
40. Guo T, Zhang D, Zeng Y, Huang TY, Xu H, Zhao Y. Molecular and cellular mechanisms underlying the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*. 2020;15(1). doi:10.1186/s13024-020-00391-7
41. Tzioras M, McGeachan RI, Durrant CS, Spires-Jones TL. Synaptic degeneration in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*. 2023;19(1):19-38. doi:10.1038/s41582-022-00749-z
42. Tönnies E, Trushina E. Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017;57(4):1105-1121. doi:10.3233/JAD-161088
43. Li Y, Fan H, Sun J, et al. Circular RNA expression profile of Alzheimer's disease and its clinical significance as biomarkers for the disease risk and progression. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2020;123. doi:10.1016/j.biocel.2020.105747
44. Chen ZR, Huang JB, Yang SL, Hong FF. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules*. 2022;27(6). doi:10.3390/molecules27061816
45. Liu PP, Xie Y, Meng XY, Kang JS. History and progress of hypotheses and clinical trials for alzheimer's disease. *Signal Transduct Target Ther*. 2019;4(1). doi:10.1038/s41392-019-0063-8
46. Fukunaga K, Yabuki Y. SAK3-Induced neuroprotection is mediated by nicotinic acetylcholine receptors. In: *Nicotinic Acetylcholine Receptor Signaling in Neuroprotection*. Springer Singapore; 2018:159-171. doi:10.1007/978-981-10-8488-1_9
47. Singh SP, Gupta D. Discovery of potential inhibitor against human acetylcholinesterase: a molecular docking and molecular dynamics investigation. *Comput Biol Chem*. 2017;68:224-230. doi:10.1016/j.compbiolchem.2017.04.002
48. Riedel G, Platt B, Micheau J. *Glutamate Receptor Function in Learning and Memory*. www.elsevier.com/locate/bbr
49. Wang R, Reddy PH. Role of Glutamate and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017;57(4):1041-1048. doi:10.3233/JAD-160763

50. Agatonovic-Kustrin S, Kettle C, Morton DW. A molecular approach in drug development for Alzheimer's disease. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2018;106:553-565. doi:10.1016/j.biopha.2018.06.147
51. Zhang Y, Li P, Feng J, Wu M. Dysfunction of NMDA receptors in Alzheimer's disease. *Neurological Sciences*. 2016;37(7):1039-1047. doi:10.1007/s10072-016-2546-5
52. Mosconi L. Glucose metabolism in normal aging and Alzheimer's disease: Methodological and physiological considerations for PET studies. *Clin Transl Imaging*. 2013;1(4):217-233. doi:10.1007/s40336-013-0026-y
53. Lerch JP, Pruessner JC, Zijdenbos A, Hampel H, Teipel SJ, Evans AC. Focal decline of cortical thickness in Alzheimer's disease identified by computational neuroanatomy. *Cerebral Cortex*. 2005;15(7):995-1001. doi:10.1093/cercor/bhh200
54. Lawrence E, Vegvari C, Ower A, Hadjichrysanthou C, De Wolf F, Anderson RM. A systematic review of longitudinal studies which measure Alzheimer's disease biomarkers. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017;59(4):1359-1379. doi:10.3233/JAD-170261
55. Hampel H, Frank R, Broich K, et al. Biomarkers for alzheimer's disease: Academic, industry and regulatory perspectives. *Nat Rev Drug Discov*. 2010;9(7):560-574. doi:10.1038/nrd3115
56. Marcus C, Mena E, Subramaniam RM. Brain PET in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Clin Nucl Med*. 2014;39(10):e413-e426. doi:10.1097/RLU.0000000000000547
57. Drzezga A, Altomare D, Festari C, et al. Diagnostic utility of 18F-Fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) in asymptomatic subjects at increased risk for Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2018;45(9):1487-1496. doi:10.1007/s00259-018-4032-1
58. Panegyres PK, Rogers JM, McCarthy M, Campbell A, Wu JS. Fluorodeoxyglucose-positron emission tomography in the differential diagnosis of early-onset dementia: A prospective, community-based study. *BMC Neurol*. 2009;9. doi:10.1186/1471-2377-9-41
59. Matveev S V., Spielmann HP, Metts BM, et al. A distinct subfraction of A β is responsible for the high-affinity Pittsburgh compound B-binding site in Alzheimer's disease brain. *J Neurochem*. 2014;131(3):356-368. doi:10.1111/jnc.12815
60. Saint-Aubert L, Lemoine L, Chiotis K, Leuzy A, Rodriguez-Vieitez E, Nordberg A. Tau PET imaging: present and future directions. *Mol Neurodegener*. 2017;12(1). doi:10.1186/s13024-017-0162-3

61. Wu XL, Piña-Crespo J, Zhang YW, Chen XC, Xu HX. Tau-mediated neurodegeneration and potential implications in diagnosis and treatment of Alzheimer's disease. *Chin Med J (Engl)*. 2017;130(24):2978-2990. doi:10.4103/0366-6999.220313
62. Villemagne VL, Fodero-Tavoletti MT, Masters CL, Rowe CC. *Tau Imaging: Early Progress and Future Directions*. Vol 14.; 2015. www.thelancet.com/neurology
63. Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*. 2020;25(24). doi:10.3390/MOLECULES25245789
64. Neugroschl J, Wang S. Alzheimer's disease: Diagnosis and treatment across the spectrum of disease severity. *Mount Sinai Journal of Medicine*. 2011;78(4):596-612. doi:10.1002/msj.20279
65. Frisoni GB, Winblad B, O'Brien JT. Revised NIA-AA criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: A step forward but not yet ready for widespread clinical use. *Int Psychogeriatr*. 2011;23(8):1191-1196. doi:10.1017/S1041610211001220
66. Moura AR, Lee S, Habeck C, Razlighi Q, Stern Y. The relationship between white matter hyperintensities and cognitive reference abilities across the life span. *Neurobiol Aging*. 2019;83:31-41. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2019.08.024
67. Camporesi E, Nilsson J, Brinkmalm A, et al. Fluid Biomarkers for Synaptic Dysfunction and Loss. *Biomark Insights*. 2020;15. doi:10.1177/1177271920950319
68. Cooke SF, Bliss TVP. Plasticity in the human central nervous system. *Brain*. 2006;129(7):1659-1673. doi:10.1093/brain/awl082
69. Maiti P, Manna J, Ilavazhagan G, Rossignol J, Dunbar GL. Molecular regulation of dendritic spine dynamics and their potential impact on synaptic plasticity and neurological diseases. *Neurosci Biobehav Rev*. 2015;59:208-237. doi:10.1016/j.neubiorev.2015.09.020
70. Yu W, Lu B. Synapses and dendritic spines as pathogenic targets in Alzheimer's disease. *Neural Plast*. 2012;2012. doi:10.1155/2012/247150
71. Mcconnell 72 H M, Watts TH, Weis RM, Brian AA, Selkoe DJ. 45. *P. Anton van Der Merwe*. Vol 20.; 1998. https://www.science.org
72. Cline EN, Bicca MA, Viola KL, Klein WL. The Amyloid- β Oligomer Hypothesis: Beginning of the Third Decade. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2018;64(s1):S567-S610. doi:10.3233/JAD-179941
73. Repress A, Jean ', Deloulme C, Sensenbrenner M, Ben-Ari Y, Baudier2 J. *Neurogranin: Lmmunocytochemical Localization of a Brain-Specific Protein Kinase C Substrate.*; 1990.

74. Kvartsberg H, Portelius E, Andreasson U, et al. Characterization of the postsynaptic protein neurogranin in paired cerebrospinal fluid and plasma samples from Alzheimer's disease patients and healthy controls. *Alzheimers Res Ther.* 2015;7(1). doi:10.1186/s13195-015-0124-3
75. Park Y, Ryu JK. Models of synaptotagmin-1 to trigger Ca²⁺-dependent vesicle fusion. *FEBS Lett.* 2018;592(21):3480-3492. doi:10.1002/1873-3468.13193
76. Antonucci F, Corradini I, Fossati G, Tomasoni R, Menna E, Matteoli M. SNAP-25, a Known presynaptic protein with emerging postsynaptic functions. *Front Synaptic Neurosci.* 2016;8(MAR). doi:10.3389/fnsyn.2016.00007
77. Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules.* 2020;25(24). doi:10.3390/MOLECULES25245789
78. Mills SM, Mallmann J, Santacruz AM, et al. Preclinical trials in autosomal dominant AD: Implementation of the DIAN-TU trial. In: *Revue Neurologique.* Vol 169. ; 2013:737-743. doi:10.1016/j.neurol.2013.07.017
79. Wattmo C, Minthon L, Wallin ÅK. Mild versus moderate stages of Alzheimer's disease: Three-year outcomes in a routine clinical setting of cholinesterase inhibitor therapy. *Alzheimers Res Ther.* 2016;8(1). doi:10.1186/s13195-016-0174-1
80. Anil Kumar; Jaskirat Sidhu; Amandeep Goyal; Jack W. Tsao. Alzheimer Disease. June 5.
81. Apostolova LG. *Alzheimer Disease.* www.ContinuumJournal.com
82. De-Paula VJ, Radanovic M, Diniz BS, Forlenza O V. Alzheimer's disease. *Subcell Biochem.* 2012;65:329-352. doi:10.1007/978-94-007-5416-4_14
83. Litke R, Garcharna LC, Jiwani S, Neugroschl J. Modifiable Risk Factors in Alzheimer Disease and Related Dementias: A Review. *Clin Ther.* 2021;43(6):953-965. doi:10.1016/j.clinthera.2021.05.006
84. Zhang XX, Tian Y, Wang ZT, Ma YH, Tan L, Yu JT. The Epidemiology of Alzheimer's Disease Modifiable Risk Factors and Prevention. *Journal of Prevention of Alzheimer's Disease.* 2021;8(3):313-321. doi:10.14283/jpad.2021.15
85. IRCCS Ospedale Sacro Cuore Don Calabria. La malattia di Alzheimer è ereditaria? 20 settembre.
86. Riedel BC, Thompson PM, Brinton RD. Age, APOE and sex: Triad of risk of Alzheimer's disease. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology.* 2016;160:134-147. doi:10.1016/j.jsbmb.2016.03.012

87. Hou Y, Dan X, Babbar M, et al. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol*. 2019;15(10):565-581. doi:10.1038/s41582-019-0244-7
88. Bekris LM, Yu CE, Bird TD, Tsuang DW. Review article: Genetics of Alzheimer disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 2010;23(4):213-227. doi:10.1177/0891988710383571
89. Lanoiselée HM, Nicolas G, Wallon D, et al. APP, PSEN1, and PSEN2 mutations in early-onset Alzheimer disease: A genetic screening study of familial and sporadic cases. *PLoS Med*. 2017;14(3). doi:10.1371/journal.pmed.1002270
90. Mahley RW. Apolipoprotein E: from cardiovascular disease to neurodegenerative disorders. *J Mol Med*. 2016;94(7):739-746. doi:10.1007/s00109-016-1427-y
91. Vöglein J, Noachtar S, McDade E, et al. Seizures as an early symptom of autosomal dominant Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2019;76:18-23. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2018.11.022
92. Gatz M, Reynolds CA, Fratiglioni L, et al. *Role of Genes and Environments for Explaining Alzheimer Disease*. Vol 63.; 2006.
93. Schramm C, Wallon D, Nicolas G, Charbonnier C. *What Contribution Can Genetics Make to Predict the Risk of Alzheimer's Disease?;* 2022.
94. Wernette-Hammond ME, Lauer SJ, Corsini A, Walker D, Taylor JM, Rall SC. Glycosylation of Human Apolipoprotein E. *Journal of Biological Chemistry*. 1989;264(15):9094-9101. doi:10.1016/s0021-9258(18)81907-x
95. Mahley RW. *Apolipoprotein E: Cholesterol Transport Protein with Expanding Role in Cell Biology*. www.sciencemag.org
96. Mahley RW, Rall SC. *APOLIPOPROTEIN E: Far More Than a Lipid Transport Protein.*; 2000. www.annualreviews.org
97. Mahley RW, Weisgraber KH, Huang Y. Apolipoprotein E: Structure determines function, from atherosclerosis to Alzheimer's disease to AIDS. *J Lipid Res*. 2009;50(SUPPL.). doi:10.1194/jlr.R800069-JLR200
98. Mahley RW, Huang Y, Rall SC. *Pathogenesis of Type III Hyperlipoproteinemia (Dysbetalipoproteinemia): Questions, Quandaries, and Paradoxes Supplementary Key Words Apolipoprotein E • Lipoprotein Metabolism • Heparan Sulfate Proteoglycans • LDL Receptor • Lipolysis •VLDL • VLDL Production • Hypercholesterolemia • Hypertriglyceridemia • Rem-Nant Lipoproteins*. Vol 40.; 1999.
99. Wilson C, Mau T, Weisgraber KH, Wardell MR, Mahley RW, Agard' DA. *Salt Bridge Relay Triggers Defective LDL Receptor Binding by a Mutant Apolipoprotein*.

100. Yu CE, Payami H, Olson JM, et al. *The Apolipoprotein E/CI/CII Gene Cluster and Late-Onset Alzheimer Disease*. Vol 4.; 1994.
101. Wisniewski T, Castano EM, Golabek A, Vogel T, Frangione B. *National Institutes of Health Grants AG 10953*. Vol 145.; 1994.
102. Castellano JM, Kim J, Stewart FR, et al. Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid- β peptide clearance. *Sci Transl Med*. 2011;3(89). doi:10.1126/scitranslmed.3002156
103. Ladutl MJ, Faldutonll MT, Manellill AM, Reardons CA, Getz8 GS, Frail7 DE. *Isoform-Specific Binding of Apolipoprotein E to p-Amyloid**. Vol 269.; 1994.
104. Verghese PB, Castellano JM, Garai K, et al. ApoE influences amyloid- β ($A\beta$) clearance despite minimal apoE/ $A\beta$ association in physiological conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(19). doi:10.1073/pnas.1220484110
105. Tcw J, Goate AM. Genetics of β -Amyloid Precursor Protein in Alzheimer's Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2017;7(6). doi:10.1101/cshperspect.a024539
106. Giau V Van, Bagyinszky E, An SSA, Kim SY. Role of apolipoprotein E in neurodegenerative diseases. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2015;11:1723-1737. doi:10.2147/NDT.S84266
107. Huang Y, Mucke L. Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies. *Cell*. 2012;148(6):1204-1222. doi:10.1016/j.cell.2012.02.040
108. Mahley RW, Huang Y. Small-Molecule structure correctors target abnormal protein structure and function: Structure corrector rescue of apolipoprotein E4-associated neuropathology. *J Med Chem*. 2012;55(21):8997-9008. doi:10.1021/jm3008618
109. Li NM, Liu KF, Qiu YJ, Zhang HH, Nakanishi H, Qing H. Mutations of beta-amyloid precursor protein alter the consequence of Alzheimer's disease pathogenesis. *Neural Regen Res*. 2019;14(4):658-665. doi:10.4103/1673-5374.247469
110. Dai MH, Zheng H, Zeng LD, Zhang Y. *The Genes Associated with Early-Onset Alzheimer's Disease*. Vol 9.; 2018. www.oncotarget.com
111. De Strooper B. Loss-of-function presenilin mutations in Alzheimer disease. Talking Point on the role of presenilin mutations in Alzheimer disease. *EMBO Rep*. 2007;8(2):141-146. doi:10.1038/sj.embor.7400897
112. Bossaerts L, Cacace R, Van Broeckhoven C. The role of ATP-binding cassette subfamily A in the etiology of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*. 2022;17(1). doi:10.1186/s13024-022-00536-w

113. Kim WS, Guillemin GJ, Glaros EN, Lim CK, Garner B. *Quantitation of ATP-Binding Cassette Subfamily-A Transporter Gene Expression in Primary Human Brain Cells*. <http://journals.lww.com/neuroreport>
114. Kim WS, Guillemin GJ, Glaros EN, Lim CK, Garner B. *Quantitation of ATP-Binding Cassette Subfamily-A Transporter Gene Expression in Primary Human Brain Cells*. <http://journals.lww.com/neuroreport>
115. Fitzgerald ML, Mendez AJ, Moore KJ, Andersson LP, Panjeton HA, Freeman MW. ATP-binding Cassette Transporter A1 Contains an NH 2-terminal Signal Anchor Sequence That Translocates the Protein's First Hydrophilic Domain to the Exoplasmic Space*. Published online 2001. doi:10.1074/jbc.M000474200
116. Tall AR, Wang N. *Tangier Disease as a Test of the Reverse Cholesterol Transport Hypothesis*. Vol 106.; 2000.
117. Cheng X, Smith JC. Biological Membrane Organization and Cellular Signaling. *Chem Rev*. 2019;119(9):5849-5880. doi:10.1021/acs.chemrev.8b00439
118. Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee SM, et al. *Mutations in ABC1 in Tangier Disease and Familial High-Density Lipoprotein Deficiency*. Vol 22.; 1999. <http://www.xenonbiore->
119. Aleshkov S, Abraham CR, Zannis VI. *Interaction of Nascent ApoE2, ApoE3, and ApoE4 Isoforms Expressed in Mammalian Cells with Amyloid Peptide (1-40). Relevance to Alzheimer's Disease †*; 1997. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
120. Koldamova R, Fitz NF, Lefterov I. ATP-binding cassette transporter A1: From metabolism to neurodegeneration. *Neurobiol Dis*. 2014;72(Part A):13-21. doi:10.1016/j.nbd.2014.05.007
121. Nordestgaard LT, Tybjærg-Hansen A, Nordestgaard BG, Frikke-Schmidt R. Loss-of-function mutation in ABCA1 and risk of Alzheimer's disease and cerebrovascular disease. *Alzheimer's and Dementia*. 2015;11(12):1430-1438. doi:10.1016/j.jalz.2015.04.006
122. Zhang J, Liu Q. Cholesterol metabolism and homeostasis in the brain. *Protein Cell*. 2015;6(4):254-264. doi:10.1007/s13238-014-0131-3
123. Fareed MM, Qasmi M, Aziz S, Völker E, Förster CY, Shityakov S. The Role of Clusterin Transporter in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease at the Blood–Brain Barrier Interface: A Systematic Review. *Biomolecules*. 2022;12(10). doi:10.3390/biom12101452

124. Kim YM, Park SJ, Choi SY, et al. Clusterin Binding Modulates the Aggregation and Neurotoxicity of Amyloid- β (1–42). *Mol Neurobiol.* 2022;59(10):6228-6244. doi:10.1007/s12035-022-02973-6
125. Scheidt T, Łapińska U, Kumita JR, et al. *B I O P H Y S I C S Secondary Nucleation and Elongation Occur at Different Sites on Alzheimer's Amyloid-b Aggregates.*; 2019.
126. Narayan P, Orte A, Clarke RW, et al. The extracellular chaperone clusterin sequesters oligomeric forms of the amyloid- β 1-40 peptide. *Nat Struct Mol Biol.* 2012;19(1):79-84. doi:10.1038/nsmb.2191
127. Desikan RS, Thompson WK, Holland D, et al. The role of clusterin in amyloid- β -associated neurodegeneration. *JAMA Neurol.* 2014;71(2):180-187. doi:10.1001/jamaneurol.2013.4560
128. Bucossi S, Polimanti R, Mariani S, et al. Association of K832R and R952K SNPs of wilson's disease gene with alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2012;29(4):913-919. doi:10.3233/JAD-2012-111997
129. Beeg M, Stravalaci M, Romeo M, et al. Clusterin binds to A β 1-42 Oligomers with high affinity and interferes with peptide aggregation by inhibiting primary and secondary nucleation. *Journal of Biological Chemistry.* 2016;291(13):6958-6966. doi:10.1074/jbc.M115.689539
130. Gao P, Ye L, Cheng H, Li H. The Mechanistic Role of Bridging Integrator 1 (BIN1) in Alzheimer's Disease. *Cell Mol Neurobiol.* 2021;41(7):1431-1440. doi:10.1007/s10571-020-00926-y
131. Elliott K, Ge K, Du W, Prendergast GC. *The C-Myc-Interacting Adaptor Protein Bin1 Activates a Caspase-Independent Cell Death Program.* Vol 19.; 2000. www.nature.com/onc
132. Mills KHG. TLR-dependent T cell activation in autoimmunity. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(12):807-822. doi:10.1038/nri3095
133. Soler-López M, Badiola N, Zanzoni A, Aloy P. Towards Alzheimer's root cause: ECSIT as an integrating hub between oxidative stress, inflammation and mitochondrial dysfunction: Hypothetical role of the adapter protein ECSIT in familial and sporadic Alzheimer's disease pathogenesis. *BioEssays.* 2012;34(7):532-541. doi:10.1002/bies.201100193
134. Sundermann EE, Maki PM, Bishop JR. A review of estrogen receptor α gene (ESR1) polymorphisms, mood, and cognition. *Menopause.* 2010;17(4):874-886. doi:10.1097/gme.0b013e3181df4a19

135. V. Thornton, D. Warden, C. Talbot, S.S. Mastana, S. Bandelow, E. Hogervorst. Modification of estrogen's association with Alzheimer's disease risk by genetic polymorphisms. *Brain Res.* 2011;16:1379:213-23. doi: 10.1016/j.brainres.2010.12.074
136. Rahmannedhad G, Mashayekhi FJ, Goodarzi MT, Rezvanfar MR, Sadeghi A. Association between vitamin D receptor ApaI and TaqI gene polymorphisms and gestational diabetes mellitus in an Iranian pregnant women population. *Gene.* 2016;581(1):43-47. doi:10.1016/j.gene.2016.01.026
137. Liu X, Jiao B, Shen L. The Epigenetics of Alzheimer's Disease: Factors and Therapeutic Implications. *Front Genet.* 2018;9. doi:10.3389/fgene.2018.00579
138. Chen Z, Wu M, Lai Q, Zhou W, Wen X, Yin X. Epigenetic regulation of synaptic disorder in Alzheimer's disease. *Front Neurosci.* 2022;16. doi:10.3389/fnins.2022.888014
139. Zhang CC, Xing A, Tan MS, Tan L, Yu JT. The Role of MAPT in Neurodegenerative Diseases: Genetics, Mechanisms and Therapy. *Mol Neurobiol.* 2016;53(7):4893-4904. doi:10.1007/s12035-015-9415-8
140. Di Francesco A, Arosio B, Falconi A, et al. Global changes in DNA methylation in Alzheimer's disease peripheral blood mononuclear cells. *Brain Behav Immun.* 2015;45:139-144. doi:10.1016/j.bbi.2014.11.002
141. M. Lachner, D. O'Carroll, S. Rea, K. Mechtler, T. Jenuwein. Methylation of histone H3 lysine 9 creates a binding site for HP1 proteins. *Nature.* 2011; 410(6824):116-20. doi: 10.1038/35065132.
142. Levenson JM, O'Riordan KJ, Brown KD, Trinh MA, Molfese DL, Sweatt JD. Regulation of histone acetylation during memory formation in the hippocampus. *Journal of Biological Chemistry.* 2004;279(39):40545-40559. doi:10.1074/jbc.M402229200
143. Gräff J, Rei D, Guan JS, et al. An epigenetic blockade of cognitive functions in the neurodegenerating brain. *Nature.* 2012;483(7388):222-226. doi:10.1038/nature10849
144. Green KN, Steffan JS, Martinez-Coria H, et al. Nicotinamide restores cognition in Alzheimer's disease transgenic mice via a mechanism involving sirtuin inhibition and selective reduction of Thr231-phosphotau. *Journal of Neuroscience.* 2008;28(45):11500-11510. doi:10.1523/JNEUROSCI.3203-08.2008
145. Cuadrado-Tejedor M, Oyarzabal J, Lucas MP, Franco R, García-Osta A. Epigenetic drugs in Alzheimer's disease. *Biomol Concepts.* 2013;4(5):443-445. doi:10.1515/bmc-2013-0012
146. Cristina Gracia Rebled A, Santabárbara Serrano J, López Antón R, et al. *REVISIÓN SISTEMÁTICA OCUPACIÓN LABORAL Y RIESGO DE DETERIORO COGNITIVO Y*

- DEMENCIA EN PERSONAS MAYORES DE 55 AÑOS: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA*. Vol 90.; 2016. www.msc.es/resp
147. Majoka MA, Schimming C. Effect of Social Determinants of Health on Cognition and Risk of Alzheimer Disease and Related Dementias. *Clin Ther.* 2021;43(6):922-929. doi:10.1016/j.clinthera.2021.05.005
 148. Moulton PV, Yang W. Air pollution, oxidative stress, and alzheimer's disease. *J Environ Public Health.* 2012;2012. doi:10.1155/2012/472751
 149. Ott A, Slooter AJ, Hofman A, van Harskamp F, Witteman JC, Van Broeckhoven C, van Duijn CM, Breteler MM. Smoking and risk of dementia and Alzheimer's disease in a population-based cohort study: the Rotterdam Study. *Lancet.* 1998 Jun 20;351(9119):1840-3. doi: 10.1016/s0140-6736(97)07541-7. PMID: 9652667.
 150. Hu N, Yu JT, Tan L, Wang YL, Sun L, Tan L. Nutrition and the risk of alzheimer's disease. *Biomed Res Int.* 2013;2013. doi:10.1155/2013/524820
 151. Abate G, Marziano M, Rungratanawanich W, Memo M, Uberti D. Nutrition and AGE-ing: Focusing on Alzheimer's Disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017. doi:10.1155/2017/7039816
 152. Koyama A, Hashimoto M, Tanaka H, et al. Malnutrition in Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies, and frontotemporal lobar degeneration: Comparison using serum albumin, total protein, and hemoglobin level. *PLoS One.* 2016;11(6). doi:10.1371/journal.pone.0157053
 153. Deture MA, Dickson DW. The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener.* 2019;14(1). doi:10.1186/s13024-019-0333-5
 154. Levine KS, Leonard HL, Blauwendraat C, et al. Virus exposure and neurodegenerative disease risk across national biobanks. *Neuron.* 2023;111(7):1086-1093.e2. doi:10.1016/j.neuron.2022.12.029
 155. Dominy SS, Lynch C, Ermini F, et al. *HEALTH AND MEDICINE Porphyromonas Gingivalis in Alzheimer's Disease Brains: Evidence for Disease Causation and Treatment with Small-Molecule Inhibitors.*; 2019.
 156. Gurav AN. Alzheimer's disease and periodontitis - An elusive link. *Rev Assoc Med Bras.* 2014;60(2):173-180. doi:10.1590/1806-9282.60.02.015
 157. Stewart R, Sabbah W, Tsakos G, D'Aiuto F, Watt RG. Oral health and cognitive function in the third national health and nutrition examination survey (NHANES III). *Psychosom Med.* 2008;70(8):936-941. doi:10.1097/PSY.0b013e3181870acc

158. Gümüş P, Nizam N, Lappin DF, Buduneli N. Saliva and Serum Levels of B-Cell Activating Factors and Tumor Necrosis Factor- α in Patients With Periodontitis. *J Periodontol.* 2014;85(2):270-280. doi:10.1902/jop.2013.130117
159. Wu Z, Nakanishi H. Connection between periodontitis and Alzheimer's disease: Possible roles of microglia and leptomenigeal cells. *J Pharmacol Sci.* 2014;126(1):8-13. doi:10.1254/jphs.14R11CP
160. Royea J, Hamel E. Brain angiotensin II and angiotensin IV receptors as potential Alzheimer's disease therapeutic targets. *Geroscience.* 2020;42(5):1237-1256. doi:10.1007/s11357-020-00231-y
161. Bernstein HG, Ansorge S, Riederer P, Reiser M, Frölich L, Bogerts B. *Insulin-Degrading Enzyme in the Alzheimer's Disease Brain: Prominent Localization in Neurons and Senile Plaques.*; 1999.
162. Liu Y, Nguyen M, Robert A, Meunier B. Metal Ions in Alzheimer's Disease: A Key Role or Not? *Acc Chem Res.* 2019;52(7):2026-2035. doi:10.1021/acs.accounts.9b00248
163. Klose D, Vemulapalli SPB, Richman M, et al. Cu²⁺-Induced self-assembly and amyloid formation of a cyclic d,l- α -peptide: structure and function†. *Physical Chemistry Chemical Physics.* 2022;24(11):6699-6715. doi:10.1039/d1cp05415e
164. Chen LL, Fan YG, Zhao LX, Zhang Q, Wang ZY. The metal ion hypothesis of Alzheimer's disease and the anti-neuroinflammatory effect of metal chelators. *Bioorg Chem.* 2023 Feb;131:106301. doi: 10.1016/j.bioorg.2022.106301. Epub 2022 Nov 25. PMID: 36455485.
165. Duck KA, Simpson IA, Connor JR. Regulatory mechanisms for iron transport across the blood-brain barrier. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;494(1-2):70-75. doi:10.1016/j.bbrc.2017.10.083
166. Zhou ZD, Tan EK. Iron regulatory protein (IRP)-iron responsive element (IRE) signaling pathway in human neurodegenerative diseases. *Mol Neurodegener.* 2017;12(1). doi:10.1186/s13024-017-0218-4
167. Jiang H, Song N, Xu H, Zhang S, Wang J, Xie J. Up-regulation of divalent metal transporter 1 in 6-hydroxydopamine intoxication is IRE/IRP dependent. *Cell Res.* 2010;20(3):345-356. doi:10.1038/cr.2010.20
168. Mortensen MS, Ruiz J, Watts JL. Polyunsaturated Fatty Acids Drive Lipid Peroxidation during Ferroptosis. *Cells.* 2023;12(5). doi:10.3390/cells12050804

169. Wang S, Jiang Y, Liu Y, et al. Ferroptosis promotes microtubule-associated protein tau aggregation via GSK-3 β activation and proteasome inhibition. *Mol Neurobiol.* 2022;59(3):1486-1501. doi:10.1007/s12035-022-02731-8
170. Zhou S, Du X, Xie J, Wang J. Interleukin-6 regulates iron-related proteins through c-Jun N-terminal kinase activation in BV2 microglial cell lines. *PLoS One.* 2017;12(7). doi:10.1371/journal.pone.0180464
171. Rathore KI, Redensek A, David S. Iron homeostasis in astrocytes and microglia is differentially regulated by TNF- α and TGF- β 1. *Glia.* 2012;60(5):738-750. doi:10.1002/glia.22303
172. Origa R, Danjou F, Cossa S, et al. Impact of heart magnetic resonance imaging on chelation choices, compliance with treatment and risk of heart disease in patients with thalassaemia major. *Br J Haematol.* 2013;163(3):400-403. doi:10.1111/bjh.12517
173. Calvaruso G, Vitrano A, Di Maggio R, et al. Deferiprone versus deferoxamine in thalassemia intermedia: Results from a 5-year long-term Italian multicenter randomized clinical trial. *Am J Hematol.* 2015;90(7):634-638. doi:10.1002/ajh.24024
174. Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic B V. Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurol.* 2018;14(3):133-150. doi:10.1038/nrneurol.2017.188
175. Santos CY, Snyder PJ, Wu WC, Zhang M, Echeverria A, Alber J. Pathophysiologic relationship between Alzheimer's disease, cerebrovascular disease, and cardiovascular risk: A review and synthesis. *Alzheimer's and Dementia: Diagnosis, Assessment and Disease Monitoring.* 2017;7:69-87. doi:10.1016/j.dadm.2017.01.005
176. Rohm T V., Meier DT, Olefsky JM, Donath MY. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity.* 2022;55(1):31-55. doi:10.1016/j.immuni.2021.12.013
177. Chen J, Mooldijk SS, Licher S, et al. Assessment of Advanced Glycation End Products and Receptors and the Risk of Dementia. *JAMA Netw Open.* 2021;4(1). doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.33012
178. Frölich L, Blum-Degen D, Bernstein HG, et al. *Brain Insulin and Insulin Receptors in Aging and Sporadic Alzheimer's Disease.* Vol 105.; 1998.
179. Livingston G, Sommerlad A, Orgeta V, et al. Dementia prevention, intervention, and care. *The Lancet.* 2017;390(10113):2673-2734. doi:10.1016/S0140-6736(17)31363-6
180. Chew H, Solomon VA, Fonteh AN. Involvement of Lipids in Alzheimer's Disease Pathology and Potential Therapies. *Front Physiol.* 2020;11. doi:10.3389/fphys.2020.00598

181. Schilling S, Tzourio C, Soumaré A, et al. Differential associations of plasma lipids with incident dementia and dementia subtypes in the 3C Study: A longitudinal, population-based prospective cohort study. *PLoS Med.* 2017;14(3). doi:10.1371/journal.pmed.1002265
182. Svensson T, Sawada N, Mimura M, Nozaki S, Shikimoto R, Tsugane S. The association between midlife serum high-density lipoprotein and mild cognitive impairment and dementia after 19 years of follow-up. *Transl Psychiatry.* 2019;9(1). doi:10.1038/s41398-018-0336-y
183. Shi L, Chen SJ, Ma MY, et al. Sleep disturbances increase the risk of dementia: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev.* 2018;40:4-16. doi:10.1016/j.smrv.2017.06.010
184. Chen JC, Espeland MA, Brunner RL, et al. Sleep duration, cognitive decline, and dementia risk in older women. *Alzheimer's and Dementia.* 2016;12(1):21-33. doi:10.1016/j.jalz.2015.03.004
185. Lei P, Ayton S, Bush AI. The essential elements of Alzheimer's disease. *J Biol Chem.* 2021 Jan-Jun;296:100105. doi: 10.1074/jbc.REV120.008207. Epub 2020 Nov 27. PMID: 33219130; PMCID: PMC7948403.
186. Krueger KR, Wilson RS, Kamenetsky JM, Barnes LL, Bienias JL, Bennett DA. Social engagement and cognitive function in old age. *Exp Aging Res.* 2009;35(1):45-60. doi:10.1080/03610730802545028
187. McCollum L, Karlawish J. Cognitive Impairment Evaluation and Management. *Med Clin North Am.* 2020 Sep;104(5):807-825. doi: 10.1016/j.mcna.2020.06.007. PMID: 32773047; PMCID: PMC7416715.
188. Whitwell JL. Progression of atrophy in Alzheimer's disease and related disorders. *Neurotox Res.* 2010;18(3-4):339-346. doi:10.1007/s12640-010-9175-1
189. Olsson B, Lautner R, Andreasson U, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol.* 2016;15(7):673-684. doi:10.1016/S1474-4422(16)00070-3
190. Arevalo-Rodriguez I, Smailagic N, Roquéi Figuls M, et al. Mini-Mental State Examination (MMSE) for the detection of Alzheimer's disease and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2015;2015(3). doi:10.1002/14651858.CD010783.pub2
191. Kueper JK, Speechley M, Montero-Odasso M. The Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive Subscale (ADAS-Cog): Modifications and Responsiveness in Pre-

- Dementia Populations. A Narrative Review. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2018;63(2):423-444. doi:10.3233/JAD-170991
192. Cano SJ, Posner HB, Moline ML, et al. The ADAS-cog in Alzheimer's disease clinical trials: Psychometric evaluation of the sum and its parts. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010;81(12):1363-1368. doi:10.1136/jnnp.2009.204008
 193. Galvin JE, Meuser TM, Coats MA, Bakal DA, Morris JC. The "Portable" CDR: Translating the clinical dementia rating interview into a PDA format. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2009;23(1):44-49. doi:10.1097/WAD.0b013e31817634a0
 194. Olazarán J, Reisberg B, Clare L, et al. Nonpharmacological therapies in alzheimer's disease: A systematic review of efficacy. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2010;30(2):161-178. doi:10.1159/000316119
 195. Grabher BJ. Effects of Alzheimer disease on patients and their family. *J Nucl Med Technol*. 2018;46(4):335-340. doi:10.2967/jnmt.118.218057
 196. ABC News. Alzheimer's Disease: Dutch Village Doubles as Nursing Home. 9 april.
 197. Fabiani C, Antollini SS. Alzheimer's disease as a membrane disorder: Spatial cross-talk among beta-amyloid peptides, nicotinic acetylcholine receptors and lipid rafts. *Front Cell Neurosci*. 2019;13. doi:10.3389/fncel.2019.00309
 198. Simchovitz A, Heneka MT, Soreq H. Personalized genetics of the cholinergic blockade of neuroinflammation. *J Neurochem*. 2017;142:178-187. doi:10.1111/jnc.13928
 199. Marucci G, Buccioni M, Ben DD, Lambertucci C, Volpini R, Amenta F. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*. 2021 Jun 1;190:108352. doi: 10.1016/j.neuropharm.2020.108352. Epub 2020 Oct 6. PMID: 33035532.
 200. Potkin SG, Anand R, Fleming K, et al. *Brain Metabolic and Clinical Effects of Rivastigmine in Alzheimer's Disease*. Vol 4.; 2001. <https://academic.oup.com/ijnp/article/4/3/223/976197>
 201. Farlow MR, Grossberg GT, Sadowsky CH, Meng X, Somogyi M. A 24-week, randomized, controlled trial of rivastigmine patch 13.3 mg/24 h versus 4.6 mg/24 h in severe alzheimer's dementia. *CNS Neurosci Ther*. 2013;19(10):745-752. doi:10.1111/cns.12158
 202. Tang BC, Wang YT, Ren J. Basic information about memantine and its treatment of Alzheimer's disease and other clinical applications. *Ibrain*. 2023;9(3):340-348. doi:10.1002/ibra.12098

203. Guo J, Wang Z, Liu R, Huang Y, Zhang N, Zhang R. Memantine, Donepezil, or Combination Therapy—What is the best therapy for Alzheimer’s Disease? A Network Meta-Analysis. *Brain Behav.* 2020;10(11). doi:10.1002/brb3.1831
204. Brewer L, Bennett K, McGreevy C, Williams D. A population-based study of dosing and persistence with anti-dementia medications. *Eur J Clin Pharmacol.* 2013;69(7):1467-1475. doi:10.1007/s00228-013-1483-y
205. Holmes C, Boche D, Wilkinson D, et al. *Articles Long-Term Eff Ects of Aβ 42 Immunisation in Alzheimer’s Disease: Follow-up of a Randomised, Placebo-Controlled Phase I Trial.* www.thelancet.com
206. Gilman S, Koller ; M, Black ; R S, et al. *Clinical Effects of A Immunization (AN1792) in Patients with AD in an Interrupted Trial.* www.neurology.org
207. Lambracht-Washington D, Rosenberg RN. *Advances in the Development of Vaccines for Alzheimer’s Disease.* www.alz.org
208. Song C, Shi J, Zhang P, et al. Immunotherapy for Alzheimer’s disease: targeting β-amyloid and beyond. *Transl Neurodegener.* 2022;11(1). doi:10.1186/s40035-022-00292-3
209. Vandenberghe R, Riviere ME, Caputo A, et al. Active Aβ immunotherapy CAD106 in Alzheimer’s disease: A phase 2b study. *Alzheimer’s and Dementia: Translational Research and Clinical Interventions.* 2017;3(1):10-22. doi:10.1016/j.trci.2016.12.003
210. Greenberg SM, Bacskai BJ, Hernandez-Guillamon M, Pruzin J, Sperling R, van Veluw SJ. Cerebral amyloid angiopathy and Alzheimer disease — one peptide, two pathways. *Nat Rev Neurol.* 2020;16(1):30-42. doi:10.1038/s41582-019-0281-2
211. DeMattos RB, Bales KR, Cummins DJ, Dodart JC, Paul SM, Holtzman DM. *Peripheral Anti-A Antibody Alters CNS and Plasma A Clearance and Decreases Brain A Burden in a Mouse Model of Alzheimer’s Disease.* www.pnas.orgcgidoi10.1073pnas.151261398
212. Solomon B, Koppel R, Hanan E, Katzav T. *Monoclonal Antibodies Inhibit in Vitro Fibrillar Aggregation of the Alzheimer 83-Amyloid Peptide.* Vol 93.; 1996.
213. Goulet DR, Atkins WM. Considerations for the Design of Antibody-Based Therapeutics. *J Pharm Sci.* 2020;109(1):74-103. doi:10.1016/j.xphs.2019.05.031
214. Plotkin SS, Cashman NR. Passive immunotherapies targeting Aβ and tau in Alzheimer’s disease. *Neurobiol Dis.* 2020;144. doi:10.1016/j.nbd.2020.105010
215. Ostrowitzki S, Bittner T, Sink KM, et al. Evaluating the Safety and Efficacy of Crenezumab vs Placebo in Adults with Early Alzheimer Disease: Two Phase 3

- Randomized Placebo-Controlled Trials. *JAMA Neurol.* 2022;79(11):1113-1121. doi:10.1001/jamaneurol.2022.2909
216. Marjańska M, Weigand SD, Preboske G, et al. Treatment effects in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: A magnetic resonance spectroscopy study after passive immunization. *Neuroscience.* 2014;259:94-100. doi:10.1016/j.neuroscience.2013.11.052
217. Bouter Y, Noguerola JSL, Tucholla P, et al. Abeta targets of the biosimilar antibodies of Bapineuzumab, Crenezumab, Solanezumab in comparison to an antibody against N-truncated Abeta in sporadic Alzheimer disease cases and mouse models. *Acta Neuropathol.* 2015;130(5):713-729. doi:10.1007/s00401-015-1489-x
218. Doody RS, Thomas RG, Farlow M, et al. Phase 3 Trials of Solanezumab for Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine.* 2014;370(4):311-321. doi:10.1056/nejmoa1312889
219. Söderberg L, Johannesson M, Nygren P, et al. Lecanemab, Aducanumab, and Gantenerumab — Binding Profiles to Different Forms of Amyloid-Beta Might Explain Efficacy and Side Effects in Clinical Trials for Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics.* 2023;20(1):195-206. doi:10.1007/s13311-022-01308-6
220. Bohrmann B, Baumann K, Benz J, et al. Gantenerumab: A novel human anti-A β antibody demonstrates sustained cerebral amyloid- β binding and elicits cell-mediated removal of human amyloid- β . *Journal of Alzheimer's Disease.* 2012;28(1):49-69. doi:10.3233/JAD-2011-110977
221. Ostrowitzki S, Lasser RA, Dorflinger E, et al. A phase III randomized trial of gantenerumab in prodromal Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther.* 2017;9(1). doi:10.1186/s13195-017-0318-y
222. Klein G, Delmar P, Voyle N, et al. Gantenerumab reduces amyloid- β plaques in patients with prodromal to moderate Alzheimer's disease: A PET substudy interim analysis. *Alzheimers Res Ther.* 2019;11(1). doi:10.1186/s13195-019-0559-z
223. Vandenberghe R, Rinne JO, Boada M, et al. Bapineuzumab for mild to moderate Alzheimer's disease in two global, randomized, phase 3 trials. *Alzheimers Res Ther.* 2016;8(1). doi:10.1186/s13195-016-0189-7
224. From Janssen Alzheimer Immunotherapy Research & Development L (e L. *Amyloid-b 11 C-PiB-PET Imaging Results from 2 Randomized Bapineuzumab Phase 3 AD Trials.*; 2015. <http://www.adni-info.org/>

225. Gueorguieva I, Willis BA, Chua L, et al. Donanemab Population Pharmacokinetics, Amyloid Plaque Reduction, and Safety in Participants with Alzheimer's Disease. *Clin Pharmacol Ther.* 2023;113(6):1258-1267. doi:10.1002/cpt.2875
226. Mintun MA, Lo AC, Duggan Evans C, et al. Donanemab in Early Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine.* 2021;384(18):1691-1704. doi:10.1056/NEJMoa2100708
227. Salloway S, Lee E, Papka M, et al. TRAILBLAZER-ALZ 4: Topline Study Results Directly Comparing Donanemab to Aducanumab on Amyloid Lowering in Early, Symptomatic Alzheimer's Disease. *BJPsych Open.* 2023;9(S1):S67-S67. doi:10.1192/bjo.2023.227
228. Hoy SM. Lecanemab: First Approval. *Drugs.* 2023;83(4):359-365. doi:10.1007/s40265-023-01851-2
229. Cohen S, van Dyck CH, Gee M, et al. Lecanemab Clarity AD: Quality-of-Life Results from a Randomized, Double-Blind Phase 3 Trial in Early Alzheimer's Disease. *Journal of Prevention of Alzheimer's Disease.* 2023;10(4):771-777. doi:10.14283/jpad.2023.123
230. Sevigny J, Chiao P, Bussière T, et al. The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer's disease. *Nature.* 2016;537(7618):50-56. doi:10.1038/nature19323
231. Sevigny J, Chiao P, Bussière T, et al. The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer's disease. *Nature.* 2016;537(7618):50-56. doi:10.1038/nature19323
232. Linse S, Scheidt T, Bernfur K, et al. Kinetic fingerprints differentiate the mechanisms of action of anti-A β antibodies. *Nat Struct Mol Biol.* 2020;27(12):1125-1133. doi:10.1038/s41594-020-0505-6
233. Vaz M, Silva V, Monteiro C, Silvestre S. Role of Aducanumab in the Treatment of Alzheimer's Disease: Challenges and Opportunities. *Clin Interv Aging.* 2022;17:797-810. doi:10.2147/CIA.S325026
234. Ferrero J, Williams L, Stella H, et al. First-in-human, double-blind, placebo-controlled, single-dose escalation study of aducanumab (BIIB037) in mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia: Translational Research and Clinical Interventions.* 2016;2(3):169-176. doi:10.1016/j.trci.2016.06.002
235. Vaz M, Silva V, Monteiro C, Silvestre S. Role of Aducanumab in the Treatment of Alzheimer's Disease: Challenges and Opportunities. *Clin Interv Aging.* 2022;17:797-810. doi:10.2147/CIA.S325026

236. Salloway S, Chalkias S, Barkhof F, et al. Amyloid-Related Imaging Abnormalities in 2 Phase 3 Studies Evaluating Aducanumab in Patients with Early Alzheimer Disease. *JAMA Neurol.* 2022;79(1):13-21. doi:10.1001/jamaneurol.2021.4161
237. Salloway S, Chalkias S, Barkhof F, et al. Amyloid-Related Imaging Abnormalities in 2 Phase 3 Studies Evaluating Aducanumab in Patients with Early Alzheimer Disease. *JAMA Neurol.* 2022;79(1):13-21. doi:10.1001/jamaneurol.2021.4161
238. Sperling RA, Jack CR, Black SE, et al. Amyloid-related imaging abnormalities in amyloid-modifying therapeutic trials: Recommendations from the Alzheimer's Association Research Roundtable Workgroup. *Alzheimer's and Dementia.* 2011;7(4):367-385. doi:10.1016/j.jalz.2011.05.2351
239. Vaz M, Silvestre S. Alzheimer's disease: Recent treatment strategies. *Eur J Pharmacol.* 2020;887. doi:10.1016/j.ejphar.2020.173554
240. Congdon EE, Sigurdsson EM. Tau-targeting therapies for Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* 2018;14(7):399-415. doi:10.1038/s41582-018-0013-z
241. Teng E, Manser PT, Pickthorn K, et al. Safety and Efficacy of Semorinemab in Individuals with Prodromal to Mild Alzheimer Disease: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol.* 2022;79(8):758-767. doi:10.1001/jamaneurol.2022.1375
242. Teng E, Manser PT, Pickthorn K, et al. Safety and Efficacy of Semorinemab in Individuals with Prodromal to Mild Alzheimer Disease: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol.* 2022;79(8):758-767. doi:10.1001/jamaneurol.2022.1375
243. Yanamandra K, Jiang H, Mahan TE, et al. Anti-tau antibody reduces insoluble tau and decreases brain atrophy. *Ann Clin Transl Neurol.* 2015;2(3):278-288. doi:10.1002/acn3.176
244. Marino A, Battaglini M, Moles N, Ciofani G. Natural Antioxidant Compounds as Potential Pharmaceutical Tools against Neurodegenerative Diseases. *ACS Omega.* 2022;7(30):25974-25990. doi:10.1021/acsomega.2c03291
245. Ege D. Action mechanisms of curcumin in alzheimer's disease and its brain targeted delivery. *Materials.* 2021;14(12). doi:10.3390/ma14123332
246. Nelson KM, Dahlin JL, Bisson J, Graham J, Pauli GF, Walters MA. The Essential Medicinal Chemistry of Curcumin. *J Med Chem.* 2017;60(5):1620-1637. doi:10.1021/acs.jmedchem.6b00975
247. Das AK, Nanda PK, Chowdhury NR, et al. Application of pomegranate by-products in muscle foods: Oxidative indices, colour stability, shelf life and health benefits. *Molecules.* 2021;26(2). doi:10.3390/MOLECULES26020467

248. Khan N, Mukhtar H. Tea polyphenols in promotion of human health. *Nutrients*. 2019;11(1). doi:10.3390/nu11010039
249. Fitzsimmons S, Buettner LL. Therapeutic recreation interventions for need-driven dementia-compromised behaviors in community-dwelling elders. *Am J Alzheimers Dis Other Demen*. 2002 Nov-Dec;17(6):367-81. doi: 10.1177/153331750201700603. PMID: 12501484.
250. Deshmukh SR, Holmes J, Cardno A. Art therapy for people with dementia. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2018;2018(9). doi:10.1002/14651858.CD011073.pub2
251. Soufineyestani M, Khan A, Sufineyestani M. Impacts of music intervention on dementia: A review using meta-narrative method and agenda for future research. *Neurol Int*. 2021;13(1):1-17. doi:10.3390/neurolint13010001
252. Huang LK, Kuan YC, Lin HW, Hu CJ. Clinical trials of new drugs for Alzheimer disease: a 2020–2023 update. *J Biomed Sci*. 2023;30(1). doi:10.1186/s12929-023-00976-6
253. Toups K, Hathaway A, Gordon D, et al. Precision Medicine Approach to Alzheimer’s Disease: Successful Pilot Project. *Journal of Alzheimer’s Disease*. 2022;88(4):1411-1421. doi:10.3233/JAD-215707
254. Wang HY, Bakshi K, Frankfurt M, et al. Reducing amyloid-related Alzheimer’s disease pathogenesis by a small molecule targeting filamin A. *Journal of Neuroscience*. 2012;32(29):9773-9784. doi:10.1523/JNEUROSCI.0354-12.2012
255. Hey JA, Yu JY, Versavel M, et al. Clinical Pharmacokinetics and Safety of ALZ-801, a Novel Prodrug of Tramiprosate in Development for the Treatment of Alzheimer’s Disease. *Clin Pharmacokinet*. 2018;57(3):315-333. doi:10.1007/s40262-017-0608-3
256. Paul S, Haskali MB, Liow JS, et al. Evaluation of a PET radioligand to image O-GlcNAcase in brain and periphery of rhesus monkey and knock-out mouse. *Journal of Nuclear Medicine*. 2019;60(1):129-134. doi:10.2967/jnumed.118.213231
257. Borghesi F, Chirico A, Pedroli E, et al. Exploring Biomarkers of Mental Flexibility in Healthy Aging: A Computational Psychometric Study. *Sensors*. 2023;23(15). doi:10.3390/s23156983
258. Geng C, Wang Z, Tang Y. Machine learning in Alzheimer’s disease drug discovery and target identification. *Ageing Res Rev*. 2024;93:102172. doi:10.1016/j.arr.2023.102172
259. Doherty T, Yao Z, Khleifat AA I., et al. Artificial intelligence for dementia drug discovery and trials optimization. *Alzheimer’s and Dementia*. Published online December 1, 2023. doi:10.1002/alz.13428