

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica

**VACINAS E ALZHEIMER: AS DIFICULDADES NO USO DA IMUNOTERAPIA
ATIVA PARA A PREVENÇÃO E CONTROLE DO DECURSO DA DOENÇA**

Paula Renata Francisconi Santos

Trabalho de Conclusão do Curso de
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de
Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo.

Orientador:

Prof. Dr. Marco Antonio Stephano

São Paulo

2022

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Izaura Francisconi Santos e Jivanir Soares Santos, por terem me propiciado estudar mesmo frente às adversidades e fornecido apoio em todas as circunstâncias.

Ao amigo Thalyson da Silva Barros que, ao ser refúgio nos dias mais obscuros, fez primavera em meus invernos.

Ao amigo Lucas Marques de Souza, por demonstrar que a vida é bela e graciosa quando se caminha, em completude, com quem tem as mesmas paixões.

Ao Professor Marco Antonio Stephano, pela dedicação e orientação no desenvolvimento deste trabalho e por exercer de forma plena o seu papel como educador.

Obrigada.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	2
LISTA DE ABREVIATURAS	1
LISTA DE TABELAS	2
RESUMO	3
1. INTRODUÇÃO	4
2. OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo geral	10
2.2 Objetivos específicos	10
3. MATERIAIS E MÉTODOS	11
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
5. CONCLUSÃO	30
6. REFERÊNCIAS	33

LISTA DE ABREVIATURAS

APC's	Células apresentadoras de antígeno – <i>Antigen-presenting cells</i>
APP	Proteína precursora amilóide – <i>Amyloid precursor protein</i>
A β	β -amilóide
A β 42	Porção de 42 resíduos de A β
BHE	Barreira hematoencefálica
CIES	Supressão epitópica induzida por carreador – <i>Carrier-induced epitope suppression</i>
CpG	Oligodesoxinucleotídeos polianiônicos de trifosfato de citosina e guanina
CRISPR	Sistema de repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente interespaçadas – <i>Clusters of Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats</i>
DA	Doença de Alzheimer
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
EOAD	Doença de Alzheimer de início precoce – <i>Early-onset Alzheimer disease</i>
KLH	Hemocianina de lapa – <i>Keyhole Limpet Hemocyanin</i>
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LOAD	Doença de Alzheimer de início tardio – <i>Late-onset Alzheimer Disease</i>
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade – <i>Major Histocompatibility Complex</i>
MPLA	Lipídio A monofosforilado – <i>Monophosphorylated lipid A</i>
OS80	Polissorbato 80
QS21	Mistura de saponinas de Quil-A
SNC	Sistema nervoso central
Th	T auxiliar – <i>T helper</i>
Th1	<i>T helper 1</i>
Th2	<i>T helper 2</i>
Th17	<i>T helper 17</i>
VLP's	Partículas semelhantes aos vírus – <i>Virus-like particles</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais estudos clínicos de vacinas contra a patologia da DA.....	13
---	----

RESUMO

SANTOS, P. R. F. **VACINAS E ALZHEIMER: AS DIFICULDADES NO USO DA IMUNOTERAPIA ATIVA PARA A PREVENÇÃO E CONTROLE DO DECURSO DA DOENÇA.** 2022. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Palavras-chave: Alzheimer, Vacinas, A β , Tau.

INTRODUÇÃO: A doença de Alzheimer, senil e neurodegenerativa, leva à decadência de funções cognitivas, de memória e motoras. Devido à prospecção do aumento de expectativa de vida, a perspectiva é de que aumente, também, o número de casos de pacientes com a patologia, gerando impactos sociais e econômicos em escala global. Pesquisas relacionadas às vacinas, em especial aos alvos patológicos A β e tau, têm ganhado evidência devido a futura possibilidade de uso destas como método de prevenção e controle do percurso da doença. **OBJETIVO:** Analisar o progresso acerca do desenvolvimento de imunoterapias ativas, através do uso de vacinas, para a prevenção e interrupção da progressão da DA, a fim de identificar as principais dificuldades encontradas pelos pesquisadores na promoção e avaliação de segurança, imunogenicidade e eficácia destas. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Busca ativa de revistas científicas e acadêmicas, artigos, livros e teses de mestrado e doutorado através de bases de dados do Scopus, Web of Science, National Library of Medicine, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde, Scientific Electronic Library on Line, ScienceDirect, Google Scholar e Elsevier. **DISCUSSÃO:** As vacinas demonstraram falhas devido às dificuldades dos pesquisadores em (I) definir alvos patogênicos corretos ou suficientes, (II) produzir formulações adequadas, (III) induzir resposta imune compatível com o estado patológico e senescente do paciente, (IV) superar diferenças entre modelos animais e modelos humanos por disparidades inerentes às espécies; (V) conduzir análises mais aprofundadas da vacinação a longo prazo, (VI) delimitar o modelo ideal de vacinação como vacina profilática e (VII) otimizar o desenho do estudo clínico com regime de dose para cada fase da DA. **CONCLUSÃO:** Mais pesquisas se justificam para suprir todas as dificuldades encontradas pelos pesquisadores. As abordagens futuras para imunoterapia ativa para a patologia da DA devem abranger a interação dos imunógenos com o sistema imunológico senescente do paciente, visando altos títulos específicos e persistentes de anticorpos contra o mecanismo multifatorial patológico da DA, tanto antes do aparecimento dos sintomas clínicos (fase precoce), prevenindo o surgimento da doença, quanto em estágios mais avançados, para estagnação e controle da DA.

1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento populacional é fenômeno característico da atual transição demográfica. O aumento da expectativa de vida é um processo exponencial, tendo sido aumentado em 20 anos no período correspondente entre 1950 e 2010. Segundo dados reunidos na *World Population Prospects*, de 2019, a prospecção de envelhecimento indica que, aproximadamente, 16% da população mundial terá mais do que 65 anos em 2050. A expectativa de vida ao nascer atingiu 72,6 anos em 2019 e é previsto que, em 2050, como resultado de melhorias na sobrevivência, a duração média de vida global corresponda à 77,1 anos. Ainda, o processo de desenvolvimento social nos países do Sul Global tem alterado a estrutura das pirâmides etárias em regiões do planeta até então caracterizadas por uma população majoritariamente jovem, como a África, América Latina e Sudeste Asiático, com projeção de parcela de idosos dobrando nestas regiões entre 2019 e 2050 (UNITED NATIONS, 2019).

O estado de saúde dos indivíduos e riscos de mortalidade acompanham esta transição demográfica, caracterizando o processo denominado como transição epidemiológica, em que problemas de saúde relacionados à população idosa têm se tornado cada vez mais proeminentes, incluindo as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (GOTTLIEB et al., 2011). Essa transição pode ser elucidada como um processo triplo marcado pelo aumento da mortalidade entre grupos idosos em relação à mortalidade entre os mais jovens, pelo crescimento dos casos de doenças não transmissíveis em detrimento aos de doenças transmissíveis e pela predominância da morbidade em relação à mortalidade (SCHRAMM et al., 2004).

As DCNT caracterizam-se como um grupo de patologias de múltiplas etiologias e fatores de risco, prolongados períodos de latência e curso da doença, origem não infecciosa e associadas a incapacidades funcionais (BRASIL, 2008). Constituem a principal causa de morbimortalidade em indivíduos senis de idade acima de 60 anos, tanto em regiões desenvolvidas quanto em desenvolvimento (GOTTLIEB et al., 2011). Dentre os casos de DCNT, a demência senil está entre uma das mais preocupantes, afetando entre 5 e 7% da população com mais de 65 anos (AMBROSE, 2013), com prevalência que aumenta de 1% aos 60 para 35% ou mais aos 90 anos de idade (GOTTLIEB et al., 2011); destes casos, a Doença de Alzheimer (DA) representa mais de 60% dos números (YIANNOPOULOU, PAPAGEORGIU, 2012).

A DA consiste no declínio crônico de funções cognitivas ocasionado por perda de conectividade cortical e degeneração neuronal. É caracterizada pela progressiva perda de memória e orientação, tomada de decisão e julgamento prejudicados, distúrbios de linguagem e dificuldade na realização de movimentos motores. É acompanhada, também, por sintomas neuropsiquiátricos, como depressão, ansiedade, alucinações, delírios e outros (YIANNOPOULOU, PAPAGEORGIU, 2012).

Assim como outros distúrbios degenerativos, a DA é uma proteinopatia que surge devido ao enovelamento incorreto de proteínas ou na imprecisão de peptídeos em adotar seu estado conformacional e funcional comum ou usual, resultando no acúmulo de proteínas, com possível formação de fibrilas, toxicidade ou perda de função (USMAN et al., 2021). Na DA, há deposição de β -amilóide (A β), peptídeos derivados de proteína precursora amilóide, APP, do inglês *Amyloid precursor protein*, formando placas A β e emaranhados neurofibrilares de tau hiperfosforilada (CHEN et al., 2017). As placas extracelulares A β desenvolvem-se na fase inicial da DA enquanto os emaranhados apresentam-se em fases posteriores da doença (USMAN et al., 2021).

A APP, uma glicoproteína de membrana do tipo 1, desempenha papel essencial na homeostase neuronal, incluindo o desenvolvimento, sinalização e transporte intracelular neuronal. Ainda, contribui para o desempenho de funções cognitivas e de memória. Em condições normais, de via não-A β , a enzima α -secretase cliva a APP, levando a formação de APP α solúvel e fragmento C-terminal ancorado na membrana que, posteriormente, é processado por γ -secretase, gerando o fragmento de peptídeo extracelular de 3 kDa e o fragmento intracelular de domínio C-terminal da APP. Na DA, por sua vez, a proteólise de APP, por β e γ -secretases, gera A β . A clivagem por β -secretase gera APP β solúvel e fragmento C-terminal ancorado na membrana. Este último também é clivado por γ -secretase, produzindo fragmento intracelular de domínio C-terminal da APP e A β . Ambas as enzimas são ativas ao longo da vida. No entanto, os efeitos precursores da DA, na produção de A β , são observados a partir dos 60 anos de idade (MANDLER et al., 2015, KNOPMAN et al., 2021).

Após a produção, A β é secretado, como monômero, no espaço extracelular. As duas principais formas de A β correspondem à A β 40 e A β 42, porções de 40 e 42 resíduos, respectivamente; A β 42 é considerada a mais patogênica devido ao maior

comprimento e tendência de agregação: a estrutura β -pregueada de A β 42 se aglomera formando fibrilas insolúveis no espaço intracelular. Quando em excesso, A β deposita-se como placa A β , também denominada placa amilóide senil, sendo um evento tóxico precoce na patogênese da DA. Oligômeros de A β induzem disfunção mitocondrial e estresse oxidativo em neurônios, levando a um grande influxo de cálcio e, conseqüentemente, toxicidade nestas células. Além disso, a ligação de oligômeros solúveis de A β em receptores – incluindo proteínas, proteoglicanos e lipídios – gera e transduz sinais neurotóxicos, causando diversos efeitos celulares e, também, disfunção mitocondrial (CHEN et al., 2017, USMAN et al., 2021).

A proteína tau, por sua vez, se trata de uma proteína associada à microtúbulos cuja ligação é regulada através de enzimas fosfatases e quinases. Tau estabiliza microtúbulos que auxiliam a transdução do sinal intracelular de neurônios. Na DA, a tau é hiperfosforilada devido ao desequilíbrio entre quinases e fosfatases neuronais: a proteína fosfatase 2 tem sua expressão e atividade diminuídas nestes pacientes, resultando na diminuição da atividade de desfosforilação (PÎRȘCOVEANU et al., 2017). A relação entre a fosforilação de tau e disfunção neuronal se dá por duas hipóteses principais: (I) com a hiperfosforilação, há diminuição da ligação de tau fosforilada aos microtúbulos, levando a desestabilização destes e a conseqüente interrupção do transporte axonal e (II) há ganho tóxico de função onde tau fosforilada leva a agregação celular, gerando efeitos tóxicos nas células neuronais (TEPPER et al., 2014). Dentre estes efeitos tóxicos, tem-se a disfunção mitocondrial em que há produção de espécies reativas de oxigênio, levando a modificações pós-traducionais de proteínas nos neurônios (PÎRȘCOVEANU et al., 2017).

Há duas categorias de DA: de início precoce, *early-onset Alzheimer Disease* ou EOAD, e de início tardio, *late-onset Alzheimer Disease* ou LOAD. Na EOAD, os sintomas comumente aparecem antes dos 65 anos de idade; em contrapartida, na LOAD, os sintomas não aparecem antes desta idade. Ambos os subgrupos apresentam características patológicas comuns, com grande grau de herdabilidade: para EOAD, as taxas de herdabilidade são maiores e variam entre 90-100%; para LOAD, as taxas são ligeiramente menores, variando entre 60-80% (NEUNER et al., 2020).

Outra classificação a ser utilizada, dentro da categorização de início da sintomatologia da doença se dá através da ocorrência da DA: esporádica ou familiar. Para os casos esporádicos, apresenta-se, em maior número, LOAD, enquanto, para

casos familiares, a herança familiar é associada à EOAD (NEUNER et al., 2020). A herança familiar está relacionada com mutações nos genes da APP, no cromossomo 21, e presenilina 1 ou 2, nos cromossomos 14 e 1, respectivamente, possuindo curso agressivo. Um detalhe importante se dá pela patologia da DA em pacientes com síndrome de Down com trissomia parcial ou total do cromossomo 21, que inclui a região do cromossomo onde reside a APP. Já os casos esporádicos possuem fatores de risco associados ao alelo 4 da *ApoE*, localizada no cromossomo 19 (DETURE, DICKSON, 2019).

A DA possui diversos estágios: precoce ou pré-clínica, leve, moderada e avançada. Na fase precoce, os pacientes são assintomáticos e biomarcadores são os únicos achados compatíveis com a doença. Estes achados incluem baixos níveis de $A\beta$ e aumento de proteínas tau no líquido cefalorraquidiano (LCR). Não há evidência de declínio ou comprometimento cognitivo ou funcional, de forma que a vida diária do paciente não é afetada. No comprometimento cognitivo leve, os pacientes apresentam comprometimento na memória e em habilidade executivas ou de função de linguagem. No entanto, continuam a realizar suas ações diárias de forma independente. Os pacientes que progridem para os demais estágios desenvolvem graves déficits cognitivos que interferem em seu funcionamento social, necessitando de assistência em atividades de vida diária. À medida que a DA progride, estes sintomas comportamentais são mais graves, resultando na perda da independência e necessidade de cuidados constantes e permanentes. No estágio moderado, os pacientes não mais realizam tarefas complexas de forma eficiente, necessitando de assistência em atividades diárias. Por fim, na DA grave, os pacientes apresentam-se dependentes inteiramente de seus cuidadores, e a patologia leva à perda de habilidades verbais e psicomotoras (PORSTEINSSON et al., 2021, THERRIAULT et al., 2022).

Os achados patológicos da DA são o padrão ouro para o diagnóstico devido às suas características altamente sugestivas da doença. No entanto, não são observados nos estágios iniciais da doença, dificultando o diagnóstico. Há atrofia cortical, mais acentuada nos córtices de associação multimodal e estruturas do lobo límbico; córtices frontal e temporal apresentam-se com sulcos aumentados e atrofia dos giros. Em consequência desta atrofia, há alargamento dos cornos frontal e temporal dos ventrículos laterais e diminuição do peso do cérebro. Também é

comumente observada a perda de pigmentação na neuromelanina no *locus coeruleus* na DA (DETURE, DICKSON, 2019).

Dois são os principais impactos gerados pela DA: social e econômico. Os pacientes acometidos pela doença têm diminuição das funções relacionadas à memória, linguagem, habilidades instrumentais e outros (WELLER, BUDSON, 2018), levando à diminuição da qualidade de vida e perda de autonomia por parte desses indivíduos (GOTTLIEB et al., 2011). E, de acordo com o *World Alzheimer Report*, o custo global com tratamento para demência tem custo anual superior a US\$1 (um) trilhão, com previsão de atingir US\$ 2 (dois) trilhões em 2030 (FLEMING et al., 2020).

A destruição neuronal, que é progressiva, leva ao desequilíbrio e escassez de diversos neurotransmissores — serotonina, dopamina, acetilcolina e outros — e, também, às deficiências cognitivas observadas no decurso da DA. Dentre as abordagens farmacoterapêuticas utilizadas, tem-se os inibidores de acetilcolinesterases e de receptores de glutamato. Para a hipótese colinérgica, os sistemas colinérgicos são afetados, ainda no início do desenvolvimento da DA, através da perda da síntese do neurotransmissor e, também, da perda de neurônios de acetilcolina. Como estratégia para aumentar a transmissão colinérgica, utilizam-se inibidores de acetilcolinesterases. A inibição de acetilcolinesterases eleva a concentração dos neurotransmissores acetilcolina, que havia sido perdida durante a morte neuronal, por retardar a degradação deste neurotransmissor nas fendas sinápticas. Receptores de glutamato, como N-metil D-aspartato, por sua vez, quando inibidos, diminuem seus efeitos de citotoxicidade, preservando neurônios. Os tratamentos psicológicos disponíveis, como exercícios físicos e estimulação cognitiva, visam diminuir as limitações relacionadas, bem como melhorar a qualidade de vida do paciente com DA (YIANNOPOULOU, PAPAGEORGIU, 2012).

Os tratamentos disponíveis para esta doença são capazes de melhorar, temporariamente, distúrbios neurotransmissores. As metodologias farmacoterapêuticas atuais, no entanto, não curam ou retardam a progressão de estágios da doença. Faz-se necessário, portanto, o desenvolvimento de formas mais eficazes de tratamento para a DA (WELLER, BUDSON, 2018). A imunoterapia ativa, através do uso de vacinas, tem sido a abordagem mais promissora para a interrupção da progressão da DA.

O desenvolvimento de intervenções imunoterapêuticas ativas para a DA deve levar em consideração os mecanismos e moléculas que impulsionam o

desenvolvimento da condição patológica. As características patológicas associadas à placa A β e tau hiperfosforilada têm sido os alvos para potenciais tratamentos, visto que, do ponto de vista fisiopatológico da DA, a mesma pode ser prevenida ou efetivamente tratada através da: (I) diminuição da produção de A β e tau; (II) prevenção da agregação ou dobragem incorreta de ambas as proteínas; (III) neutralização ou remoção dos agregados tóxicos e proteínas mal dobradas; ou (IV) combinação dessas modalidades (YIANNOPOULOU, PAPAGEORGIU, 2012).

O objetivo principal da imunoterapia ativa é gerar imunidade protetora através de diferentes tipos celulares. Após a administração da vacina, as células apresentadoras de antígenos, APC's, do inglês *Antigen-presenting Cells*, processam e apresentam os peptídeos derivados da vacina através de moléculas classe I e II do complexo principal de histocompatibilidade, MHC, do inglês *Major Histocompatibility Complex*. Posteriormente, as células T CD8⁺ e CD4⁺ são ativadas quando seus respectivos receptores de antígenos se ligam aos peptídeos apresentados por moléculas do MHC classe I e II, respectivamente (AGADJANYAN et al., 2015). As células T CD4⁺ tornam-se células T auxiliares, Th, inglês *T helper*, do tipo 1, 2 e 17 (Th1, Th2 e Th17, respectivamente), modulando a resposta imune em eventos pró-inflamatórios ou anti-inflamatórios, devido seus distintos padrões de citocinas secretadas, auxiliando as células B a produzirem anticorpos; as células T CD8⁺, por sua vez, diferenciam-se em linfócitos T citotóxicos, que removem células danificadas e infectadas (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010).

Estimula-se o sistema imunológico do paciente a reconhecer e atacar A β e tau hiperfosforilada ou produzir anticorpos que depurem a placa A β , através da depuração microglial e redistribuição para a circulação sistêmica (CHEN et al., 2017). Ainda, a produção de anticorpos específicos antes do aparecimento dos primeiros sintomas da patologia pode precaver o aparecimento das disfunções cognitivas relacionadas à DA (KABIR et al., 2020).

O aumento da predominância da DA demanda que esta se torne um tópico mais presente na comunidade científica e que o desenvolvimento de novas intervenções terapêuticas seja ampliado o quanto antes (CACABELOS, 2019), minimizando os impactos da doença. Diante dessas estimativas, é necessária a reflexão acerca dos esforços mais recentes na tentativa de desenvolvimento de métodos terapêuticos ou profiláticos que possam reverter ou prevenir completamente o decurso da DA e das maiores dificuldades encontradas pelos pesquisadores.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar o progresso acerca do desenvolvimento de imunoterapias ativas, através do uso de vacinas, para a prevenção e interrupção da progressão da DA, a fim de identificar as principais dificuldades encontradas na promoção e avaliação de segurança, imunogenicidade e eficácia das mesmas.

2.2 Objetivos específicos

- Descrever a patologia multifatorial da DA e seus mecanismos celulares e moleculares no estudo de vacinas;
- Avaliar a importância das proteínas tau e A β no desenvolvimento da DA como alvos para o controle do decurso da doença;
- Descrever o uso do reconhecimento de proteínas anormais, através de anticorpos, como método de imunoterapia ativa para a DA;
- Identificar as principais limitações das vacinas em estágio de desenvolvimento contra DA;
- Analisar a possível eficácia do uso combinado de vacinas anti-tau e anti-A β .

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo, de cunho descritivo qualitativo, foi desenvolvido a partir de revisão bibliográfica, tendo como meios de fundamentação teórica revistas científicas e acadêmicas, artigos, livros e teses de mestrado e doutorado em bases de dados, incluindo Scopus, Web of Science, National Library of Medicine, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde, Scientific Electronic Library on Line, ScienceDirect, Google Scholar e Elsevier, tendo como corte de tempo dados a partir do ano de 1995.

Como critério de inclusão, a pesquisa delimitou-se a obter informações acerca de vacinas contra a DA, seus adjuvantes e imunógenos e seus estudos clínicos e resultados obtidos, buscando correlacionar as dificuldades encontradas na produção e uso das mesmas. Como critérios de exclusão, descartam-se outros tipos de demência e patologias associadas às proteínas A β e tau e tratamentos que não sejam caracterizados como imunoterapia ativa.

Como descritores para a pesquisa, foram utilizados os termos Doença de Alzheimer; Vacina; Imunoterapia ativa; Proteína tau; Proteína β -amilóide e seus respectivos equivalentes em inglês. Foram utilizados os operadores booleanos “E” e “OU” ou “AND” e “OR”, para combinação.

Para sistematização e análise de dados obtidos foi realizada, primariamente, a leitura crítica dos estudos após o que, se atendidos os critérios de inclusão, foram exportados para o software on-line EndNote Web® para armazenamento e organização, avaliando-se, comparativamente, os diferentes dados obtidos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro relatório de prevenção da DA, pelo uso de vacinas, se deu em 1999, em um modelo animal. Camundongos transgênicos que superexpressam APP humana mutante, resultando no aumento da produção da forma de 42 aminoácidos do peptídeo A β , desenvolvem, progressivamente, características neuropatológicas da DA. Estes camundongos apresentam troca do aminoácido valina, na posição 717, por fenilalanina, gerando a APP humana mutante. Em estudo, os animais transgênicos foram imunizados com formulação vacinal constituída de A β 42, um imunógeno humano sintético (STERNER et al., 2016, SCHENK et al., 1999).

A imunização resultou na prevenção quase completa da deposição de placa A β devido ao desenvolvimento e manutenção de altos títulos de anticorpos séricos contra A β . Estudos subsequentes indicaram que a produção de A β não foi afetada e, portanto, a imunização de A β 42 preveniu a deposição ou aumentou a depuração de A β nos camundongos (SCHENK et al., 1999).

Apesar do título significativo de anticorpos anti-A β , não houve complicações imunomediadas, indicando que um possível mecanismo de ação para a imunização contra a formação de placa A β é que os anticorpos anti-A β facilitam a depuração de A β antes da deposição ou após a formação da placa A β , sugerindo, de tal forma, que a imunização contra A β é benéfica tanto para o tratamento quanto para prevenção da DA (SCHENK et al., 1999).

Como primeiro relato de um tratamento clinicamente relevante que reduziu a progressão da neuropatologia da DA, em modelo animal transgênico da doença, o estudo de Schenk et al. Foi utilizado como base para estudos clínicos em humanos considerando a possibilidade de redução semelhante da neuropatologia em pacientes com DA como um benefício clínico da imunização (SCHENK et al., 1999, STERNER et al., 2016). As características e resultados obtidos nestes principais estudos clínicos, realizados em pacientes com DA leve a moderada, estão apresentados na Tabela 1 e são explanados posteriormente.

Tabela 1: Principais estudos clínicos de vacinas contra a patologia da DA.

Vacina	Patrocinador	Ano	Antígeno	Carreador	Adjuvante	Resposta imune	Resultados obtidos	Fase clínica
OS1792	Elan e Wyett	2001	A β 42	Nenhum	QS21	Th1	Produção satisfatória de anticorpos anti- A β e indução de meningoencefalite	Encerrado em fase II
ACC-001	Janssen e Pfizer	2006	A β de resíduos 1-7	Proteína da toxina da difteria	QS21	Th1	Títulos de anticorpos anti-A β sustentados e indução de resposta autoimune	Encerrado em fase II
CAD106	Novartis	2006	A β de resíduos 1-6	Bacteriófago Qubevirus	Alúmen	Th2	Indução de resposta imune humoral anti- A β e mudança inesperada na função cognitiva	Encerrado em fase III
UB-311	United Biomedical	2009	A β de resíduos 1-14	Proteína do sarampo e antígeno de da hepatite B	Alúmen + CpG	Th2	Aumento nos níveis de anticorpos anti- A β e estabilização da função cognitiva	Encerrado em fase II
ACI-24	AC Immune, Roche e Genentech	2016	A β de resíduos 1-15	Lipossomas com lisinas tetrapalmitoladas	MPLA	Th2	Aumento nos títulos de anticorpos anti- A β e depuração de placa A β	Fase II
AD01/AD02	AFFIRiS e GSK	2009	A β mimetizado de resíduos 1-6	KLH	Alúmen	Th2	Estabilização de parâmetros cognitivos com eficácia limitada	Fase II
AADvac1	AXON Neuroscienze	2013	Tau truncado de resíduos 294-305	KLH	Alúmen	Th2	Produção de anticorpos anti-tau sem benefícios cognitivos significativos	Fase II
ACI-35	AC Immune e Janssen	2019	Tau fosforilado de resíduos 393-408	Lipossomas com lisinas tetrapalmitoladas	MPLA	Th2	Anticorpos anti-tau em baixos títulos	Fase II

Fonte : Adaptado de AGADJANYAN et al., 2015, STERNER et al., 2016, USMAN et al., 2021.

O primeiro ensaio clínico em humanos da vacina contra a DA, OS1792, utilizou A β 42 agregado, formulado em adjuvante de mistura de saponinas Quil-A, QS21, uma mistura de saponinas extraídas de *Quillaja lzheimer* Molina, uma árvore sul-americana e, também, excipiente polissorbato 80, OS80. A resposta imune à OS1792 induziu a produção de anticorpos anti-A β 42, com resultados satisfatórios nos ensaios pré-clínico e de fase I (JI et al., 2021). No entanto, em estudo de fase II, aproximadamente 6% dos pacientes tratados com OS1792 desenvolveram meningoencefalite, levando ao encerramento do estudo (STERNER et al., 2016).

Estudos de acompanhamento de fase II demonstraram que os anticorpos anti-A β 42 identificam, efetivamente, tanto as placas A β quanto os depósitos difusos de A β , em animais transgênicos. O acompanhamento de pacientes por período de cerca de 4,6 anos indicou a presença de baixos níveis de anticorpos nos anos subsequentes à vacinação, mas maiores do que em comparação aos pacientes tratados com placebo (JI et al., 2021).

As formulações vacinais possuem antígenos necessários para induzir a resposta imune específica; na vacina OS1792, direcionada à placa A β , A β 42 é utilizado como antígeno para induzir o sistema imunológico a gerar os anticorpos anti-A β . Assim como em outras proteínas, A β possui domínios N e C-terminal; o domínio N-terminal constitui o domínio hidrofílico, com 1-28 resíduos, enquanto C-terminal constitui o domínio hidrofóbico, com 29-42 resíduos. Os epítomos de A β 42 localizados na região C-terminal e central de A β constituem zona rica em epítomos de células T, enquanto os epítomos da região N-terminal constituem zona rica em epítomos de células B (USMAN et al., 2021).

Os estudos adicionais de mapeamento de A β 42 estabeleceram que a região central do peptídeo, que compreende os resíduos 14-34, induz resposta imune celular do tipo Th1. Por outro lado, a região N-terminal, que compreende os resíduos 1-15, induz a produção de anticorpos anti-A β através de resposta de células B, que é uma resposta do tipo Th2 (PARROCHA, NOWICK, 2022).

Dos pacientes com meningoencefalite, aproximadamente 28% produziram baixos níveis séricos de anticorpos anti-A β (LOBELLO et al., 2012), inferindo-se que, nestes pacientes a resposta imune para produção de linfócitos T autorreativos foi mais acentuada do que a resposta imune para a produção de anticorpos, o que condiz com o uso de epítomos de A β 42.

Uma vacina constituída de epítopo da DA deve possuir epítopo de célula B ativo advindo de A β . Este, por sua vez, se ligará ao receptor de célula B, induzindo a produção de anticorpos anti-A β . Para a máxima eficiência de produção de anticorpos, as células B anti-A β específicas necessitam do auxílio de linfócitos T. Este auxílio é iniciado através do reconhecimento dos peptídeos processados e apresentados a estes linfócitos T por células APC's. Estes linfócitos T, até então Th antígeno-específicos, irão interagir com células B específicas de antígeno ativadas, através da ligação aos peptídeos A β apresentados em moléculas do MHC classe II. É, a partir deste segundo sinal, que as células B iniciam a produção dos anticorpos de elevada afinidade aos antígenos (AGADJANYAN et al., 2015).

Visto o exposto, idealmente, uma vacina de epítopos A β , para garantir sua segurança e eficácia, não deve englobar epítopos de células T próprias, já que há possibilidade de se gerar linfócitos T autorreativos. Para contornar tal situação e, considerando a necessidade de auxílio destas células para a ativação das células B produtoras de anticorpos, foi proposto o uso de proteínas de fusão que expressam epítopos de células Th não-próprios ou estranhos, fundidos aos epítopos de células B específicas à A β comum a patologia da DA. Estas células Th estranhas, ativadas pelos componentes da vacina, induzirão as células B, específicas de epítopos da DA, a secretar os níveis elevados requeridos de anticorpos sem o risco de ocasionar meningoencefalite mediada por células T autorreativas ou outras condições inflamatórias prejudiciais (AGADJANYAN et al., 2015).

De modo ideal, os epítopos de células Th não-próprias devem ser derivadas de proteínas aos quais os indivíduos já foram previamente sensibilizados, através de imunizações ou infecções anteriores como, por exemplo, forma mutante não tóxica da toxina da difteria e antígenos da gripe, gerando anticorpos específicos a automoléculas características à DA e reforçando as resposta imune celular de linfócitos T inofensivos (AGADJANYAN et al., 2015).

Ao aprender com os resultados dos ensaios clínicos de OS1792 e suas análises, os estudos com novas vacinas trabalharam para atingir epítopos mais específicos para induzir uma resposta imune mais favorável (STERNER et al., 2016). Para ser segura, portanto, uma vacina anti-A β deve contemplar formulações que evitem a ativação de células T autorreativas a autoepítopos, dentro de A β , que possam atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), atingindo o sistema nervoso

central (SNC), e atacar as células do SNC, além de estimular respostas imunes humorais (AGADJANYAN et al., 2015).

A ACC-001 compreende a vacina de epítipo de A β testada em ensaios clínicos após as observações advindas do fracasso da vacina peptídica OS1792 e possui parte de seus dados publicados para análise.

A ACC-001 contém fragmentos do domínio N-terminal de A β de resíduos 1-7, conectado a proteína transportadora mutante não tóxica da toxina da difteria (CRM197) por meio de QS21. Em ensaios clínicos de fase I de dose única, ACC-001 mostrou segurança e tolerabilidade. Nos ensaios de fase II, os pacientes que receberam doses múltiplas de ACC-001 apresentaram títulos de anticorpos anti-A β sustentados e, consistentemente, com picos mais altos a cada imunização. Não houve registros de meningoencefalite, no entanto, alguns pacientes sofreram efeitos adversos como microhemorragia e edema vasogênico. O estudo foi abortado devido à efeitos adversos consistentes com respostas autoimunes e falta de eficácia (USMAN et al., 2021).

A correlação entre OS1792 e ACC-001 se dá pelos efeitos advindos de respostas autoimunes que persistem mesmo após a supressão de autoepítipos de células T. Estudos *post mortem* de pacientes sugeriram que a meningoencefalite é pertinente à infiltração de células T no cérebro dos indivíduos imunizados com OS1792 (AGADJANYAN et al., 2015, ORGOGOZO et al., 2003). As autópsias demonstraram grande número de células T CD4+ e depuração de placas A β , condizentes à vacinação (MARCIANI, 2015^a).

As células T CD4+, presentes no infiltrado do cérebro dos indivíduos imunizados com OS1792, diferenciam-se em células Th a depender de estímulos, ambiente tecidual e sinalização de APC's específicas. As células Th1, que já são superativadas em doenças neurodegenerativas, induzem o estado neuroinflamatório através da liberação de citocinas e mediadores pró-inflamatórios como, por exemplo, interferon-gama, fator de necrose tumoral alfa e interleucina 17. As células Th2, por sua vez, produzem citocinas anti-inflamatórias, como a interleucina 4. Ambos os tipos celulares são imprescindíveis para a manutenção de um ambiente saudável no SNC e a alteração na relação Th1/Th2 é considerada evento causador da neurodegeneração e na sua progressão (BURGALETTO et al., 2020). Um novo tipo de célula Th é a Th17, que também induz imunidade inflamatória através de interleucina 17 e interleucina 22. Embora proporcione uma forte resposta

antimicrobiana, a resposta Th17 também está frequentemente associada a respostas inflamatórias prejudiciais, incluindo lesão tecidual, em diversas condições autoimunes (MARCIANI, 2015^a).

QS21, adjuvante utilizado tanto na formulação de OS1792 quanto ACC-001, trata-se de adjuvante pró-inflamatório indutor de resposta Th1. O adjuvante constitui o componente da formulação que influencia e estimula a resposta imune requerida, não apenas dando início como, também, direção da resposta imunológica (MARCIANI, 2015^a). Os adjuvantes induzem resposta imune sistêmica de tal forma que, numa imunidade sistêmica Th1, citocinas pró-inflamatórias podem induzir a produção de mediadores também pró-inflamatórios no cérebro através de células endoteliais da BHE, agravando a inflamação, e contribuindo para o processo de meningoencefalite (MARCIANI, 2015^b).

Sob o ambiente neurodegenerativo, característico à DA, o parênquima cerebral é infiltrado por altas taxas de linfócitos T, gerando um estado neuroinflamatório que possui papel fisiopatológico crítico. Nestas condições, o estado neuroinflamatório crônico afeta não somente a integridade estrutural como, também, a permeabilidade da BHE, induzindo o aumento da transmigração de células imunes periféricas em direção ao SNC e a difusão de moléculas inflamatórias produzidas no ambiente neuroinflamatório, corroborando com o desenvolvimento e progressão das lesões (BURGALETTO et al., 2020).

Devido a desestabilização das funções adequadas da BHE, a alta frequência de células T auto reativas específicas de A β produzidas sistematicamente na periferia, por indução da resposta Th1 por QS21, foram capazes de atravessar a BHE, migrando para as placas A β presentes nos cérebros com patologia associada à DA, contribuindo para o desenvolvimento da meningoencefalite (AGADJANYAN et al., 2015, ORGOGOZO et al., 2003). No caso de ACC-001, estas células foram responsáveis pelos efeitos adversos característicos de respostas autoimunes.

OS80, outro componente da formulação vacinal de OS1792, com função de aumentar a solubilidade desta em água, também teve importante papel na indução da referida meningoencefalite (AGADJANYAN et al., 2015). Em estudos de direcionamento de fármacos revestidos com OS80 para entrega direcionada ao cérebro para tratamento da DA, OS80 aumenta consideravelmente a concentração de fármaco no SNC em comparação ao fármaco livre. Dentre os mecanismos propostos para OS80 como facilitador do transporte de compostos através da BHE, tem-se o

mecanismo de endocitose, visto que o composto adsorve apolipoproteínas após a injeção na corrente sanguínea, mimetizando partículas de lipoproteína de baixa densidade, interagindo com estas e, seguidamente, sendo absorvido por células endoteliais de capilares cerebrais através de endocitose mediada por receptor (YUSUF et al., 2021). De tal forma, a penetração no SNC dessas células T patogênicas foi possivelmente facilitada pela presença de OS80, induzindo a meningoencefalite (AGADJANYAN et al., 2015).

Considerando que adjuvantes Th1 são extremamente eficazes, sugeriu-se usá-los como indutores de citocinas inflamatórias. No entanto, mesmo em ausência de epítomos de células T em um imunógeno, adjuvantes Th1 induzem imunidade sistêmica produtora de citocinas que, quando transportadas através da BHE, induzem a resposta inflamatória no SNC. De tal forma, as vacinas para a DA devem induzir uma imunidade Th2, anti-inflamatória, evitando a progressão de processos Alzheimer os ório prejudiciais. Assim, um objetivo em estudo a ser alcançado pelos pesquisadores é o uso de adjuvante adequado (MARCIONI, 2015b).

As constatações acerca do uso de adjuvantes imunoestimuladores levou à formulação de três vacinas: CAD106, UB-311 e ACI-24. Nestas, além do uso de adjuvantes Th2, tem-se especial atenção, também, ao uso de epítomos de células B.

A CAD106 utiliza o fragmento de aminoácido 1-6 de A β como epítomo de célula B anexada à revestimento proteico do bacteriófago Qubevirus (vírus de RNA de fita positiva que infecta *Escherichia coli* e outras bactérias que possuem pilus) como carreador e alúmen como adjuvante. Os estudos de fase I demonstraram a indução de forte resposta imune humoral sem ativação de células T específicas. Não obstante, não houve relatos de casos clínicos ou subclínicos de meningoencefalite. Em fase II, 81% dos pacientes que foram imunizados tiveram resposta imune sérica requerida, indicando que CAD106 induz resposta sustentada e específica de células B para A β (STERNER et al., 2016, JI et al., 2021). Estudos em imagem por tomografia de emissão de pósitrons demonstraram diminuição das placas A β nos pacientes tratados CAD106. Apesar de não haver evidência de resposta imune de células T específicas, alguns dos pacientes apresentaram hemorragia intracerebral. Em fase III, pacientes tiveram mudanças inesperadas na função cognitiva, com perda de volume cerebral e, também, de peso corporal, o que levou à descontinuação do estudo (USMAN et al., 2021, PARROCHA, NOWICK, 2022).

A UB-311 é constituída de aminoácidos A β de resíduos 1-14 com adjuvantes CpG (oligodesoxinucleotídeos polianiônicos de trifosfato de citosina e guanina) e alumínio. Contém, no entanto, uma mistura de dois antígenos peptídicos diferentes, ambos híbridos, visando a indução de resposta de células Th: (I) A β ligado a proteína de fusão vírus do sarampo; (II) A β ligado a antígeno de superfície de vírus da hepatite B (PARROCHA, NOWICK, 2022). Os resultados dos ensaios clínicos de fase I demonstraram aumento nos níveis de anticorpos anti-A β e estabilização da função cognitiva dos pacientes. No ensaio clínico de fase II, esta resposta positiva de aumento de anticorpos e ausência de feitos colaterais graves, ocorre em 96% dos pacientes. No entanto, estes ensaios foram encerrados devido a um erro no desenho do tratamento (STERNER et al., 2016, JI et al., 2021, USMAN et al., 2021).

A ACI-24 é baseada no peptídeo A β de resíduos 1-15 com lisinas tetrapalmitoiladas acoplado a lipossomas contendo, como adjuvante, lipídio A monofosforilado, MPLA, do inglês *Monophosphorylated Lipid A*. O estudo clínico se deu em pacientes com Síndrome de Down. Em estudos de fase I, não foram encontradas anormalidades em marcadores de inflamação no SNC. Houve aumento nos títulos de anticorpos anti-A β em comparação com o grupo que recebeu placebo. Ainda, foram observados aumentos em níveis plasmáticos de A β 40 e A β 42 em comparação com o grupo controle, indicando a depuração da placa β -amilóide (RAFI et al., 2021, USMAN et al., 2021). Estudos de fase II ainda estão em andamento.

A ACC-001, CAD106, UB-311 e ACI-24 são classificadas como vacinas A β convencionais por restringirem o comprimento do antígeno ou por excluírem os epítomos de células T genuínos. Tratam-se de conjugados de fragmento do domínio N-terminal de A β e transportador e adjuvante. O domínio N-terminal é acessível tanto em monômeros e agregados de A β quanto nas placas A β . De tal forma, os anticorpos anti-A β induzidos por estas vacinas podem não discriminar os diversos estados de agregação de A β . Como mencionado, monômeros A β têm função fisiológica enquanto os agregados têm função tóxica (tanto para neurônios quanto para as sinapses). Isto pode ser evidenciado pelas mudanças inesperadas na função cognitiva dos pacientes vacinados com CAD106. Foi considerado, portanto, que o efeito benéfico potencial de vacinação deve estar aliado aos anticorpos anti-A β seletivos apenas aos agregados presentes em placas senis (MANDLER et al., 2015).

Devido ao risco de autoimunidade humoral patológica, mecanismos para reconhecimento seletivo de agregados A β têm sido estudados. As vacinas AD01 e

AD02 utilizam tecnologia baseada em mecanismos de mimetismo molecular (MANDLER et al., 2015). AD01 e AD02 são constituídas de peptídeos A β de resíduos 1-6 que mimetizam o domínio N-terminal de A β 42, conjugados com hemocianina de lapa, KLH, do inglês *Keyhole Limpet Hemocyanin*, uma metaloproteína presente na hemolinfa de alguns moluscos, como carreador, e alúmen como adjuvante (USMAN et al., 2021). Para a busca dos peptídeos, foram rastreadas bibliotecas de peptídeos, com anticorpos monoclonais específicos para o domínio N-terminal de A β 40/42. Tanto AD01 quanto AD02 foram caracterizados por uma diferença de, aproximadamente, 50% em sua sequência de aminoácidos quando comparados ao epítipo A β de resíduos 1-6 endógeno (MANDLER et al., 2015).

Em ensaios clínicos de fase I, tanto AD01 quanto AD02 demonstraram capacidade em estabilizar parâmetros cognitivos nos pacientes vacinados. Em fase II, com AD02, no entanto, foi constatada eficácia limitada (USMAN et al., 2021).

Como observado, grande parte das vacinas de epítipo de A β contra a DA são formuladas em alúmen, enquanto uma delas, UB311, possui a mistura de alúmen com CpG, formando complexos imunoestimuladores de tendência Th2 (PARROCHA, NOWICK, 2022). Até recentemente, o alúmen constituía como o único adjuvante aprovado para uso humano e que, concomitantemente, se trata de adjuvante estimulador da resposta imune celular do tipo Th2 (MARCIANI, 2015b).

A atividade imunoestimulante do alúmen advém de sua capacidade de desencadear a liberação de ácido úrico, que é entendida como sinal de perigo, amplificando a ativação de APC's pelo aumento de ligante coestimulador ou cluster de diferenciação 86. A ativação de APC's leva à resposta celular adaptativa com imunidade Th2 persistente. No entanto, o alúmen não estimula a imunidade em idosos de forma tão eficiente. Isto é demonstrado pela vacina inativada contra o vírus da influenza, que apresenta eficácia de 90% em jovens, caindo para 30%, ou menos, em pacientes com idade superior a 65 anos de idade. O mesmo caso pôde ser observado no uso da vacina AD02, que teve eficácia limitada. De tal forma, devido aos efeitos imunoestimuladores do alúmen em idosos, em baixas taxas, torna-se impraticável o uso deste em novas formulações vacinais que visem a patologia da DA (MARCIANI, 2015b).

Todos estes resultados colocam em evidência que a imunossenescência é entrave no desenvolvimento de vacinas contra DA visto a disfunção do sistema imune na população idosa, devido à involução do timo e declínio da modulação das

populações de células da classe dos leucócitos, incluindo os linfócitos. (MARCIANI, 2015b). Neste processo, as células T perdem receptores e ligantes que são necessários para a ativação das células T essenciais na ativação de células B produtoras de anticorpos, tornando-se anérgicas (MARCIANI, 2015^a).

Este sistema imunológico senescente tem menor propensão a gerar títulos de anticorpos terapêuticamente adequados em resposta à vacinação e, ainda, maior propensão ao desenvolvimento de efeitos colaterais autoimunes. Não obstante, podem ocorrer efeitos adversos após a administração da imunoterapia ativa a depender dos epítomos de ligação dos anticorpos produzidos, como visto nos ensaios clínicos de vacinas explanadas ao decorrer do texto (LANNFELT et al., 2014^a).

As vacinas para idosos devem conter adjuvantes que aumentem a imunidade, melhorando os efeitos da imunossenescência. Os adjuvantes geralmente estimulam a resposta Th1 concomitantemente com uma resposta imune Th2 humoral; ou seja, adjuvantes que induzem exclusivamente a imunidade Th2 são raros. De tal forma, a objeção ao uso de adjuvantes anti-inflamatório Th2 dá-se pela sua raridade. Estes estão, primariamente, relacionados a compostos e produtos produzidos por parasitas metazoários, como helmintos, que asseguram sua sobrevivência ao atuar inibindo a resposta inflamatória do hospedeiro e intensificar uma resposta humoral de aspecto brando (MARCIANI, 2015^a). Esta resposta protetiva se dá pela mimetização de compostos produzidos por mamíferos para regular respostas Th1 e induzir imunidade Th2 (MARCIANI, 2015b).

Dois compostos produzidos e derivados de helmintos são potenciais adjuvantes Th2: baseados em esfingolipídios e glicanos fucosilados. Ambos atuam por diferentes vias, inibindo a imunidade inflamatória, Th1, e induzindo a imunidade anti-inflamatória, Th2 (MARCIANI, 2015b).

Esfingolipídios podem induzir imunidade do tipo Th17 que, como já mencionado, está relacionada a processos inflamatórios em doenças autoimunes e, portanto, há limitações em seu uso como constituinte de uma vacina para a patologia da DA em idosos. De tal forma, agentes que propiciem imunidade Th2 e, ao mesmo, possam induzir Th17 em ausência da imunidade Th1 são compostos importantes a serem estudados na concepção e produção de vacinas contra a DA (MARCIANI, 2015^a).

Glicanos fucosilados ligam-se ao ligante coestimulador ou cluster de diferenciação 209, uma lectina C presente em algumas APC's, direcionando as

mesmas para imunidade Th2 e inibindo a imunidade Th1 (MARCIANI, 2015^a). Outro exemplo de possível adjuvante benéfico que previna este processo de anergia de células T se dá através da desacilação de QS-21. Este derivado induz forte imunidade sistêmica por resposta do tipo TH2 e, através de grupo químico aldeído em sua composição, fornece sinal coestimulatório necessário e suficiente para ativação de células T. Quando desacilado, libera resíduo fucosil que se torna disponível para se ligar ao coestimulador, direcionando APC's para a imunidade do tipo Th2. A síntese destes compostos, no entanto, é relativamente cara, o que limita, também, a sua utilização (MARCIANI, 2015^a).

Considerando o uso de uma vacina para a DA como tratamento, presume-se que sua administração seria frequente e por longo prazo. De tal forma, deve-se dar especial atenção à imunogenicidade dos adjuvantes a serem utilizados. Compostos de natureza proteica, como toxinas bacterianas, são imunogênicas, resultando, com o passar do tempo e de imunizações frequentes, na produção de títulos de anticorpos neutralizantes, que levariam à perda de eficácia da vacina. Isto se aplica, também, a carreadores, como, por exemplo, KLH e partículas virais e bacterianas, usados nas vacinas ACC-001, CAD106, UB-311, AD01 e AD02. Os anticorpos contra as proteínas do carreador utilizado podem inibir a resposta imune direcionada aos antígenos conjugados. Esse processo é conhecido como supressão epitópica induzida por carreador ou CIES, do inglês *Carrier-Induced Epitope Supression* (MARCIANI, 2015b).

Acredita-se que a interferência na resposta de anticorpos, no fenômeno CIES, surja devido a competição entre peptídeos ou polissacarídeos ligados a proteínas transportadoras homólogas por número limitados de células Th específicas do transportador. Em consequência, há aumento na resposta de anticorpos ao carreador e diminuição na resposta à peptídeos ou polissacarídeos conjugados e utilizados como antígenos (POBRE et al., 2014). A ACC-001, que contém proteína transportadora mutante não tóxica da toxina da difteria, teve falta de eficácia em análise de seus resultados de estudos clínicos. Os resultados publicados não contemplam a análise de anticorpos neutralizantes, mas este pode ser elucidado como mecanismo indutor da falta de eficácia dos anticorpos produzidos a partir de imunizações frequentes.

Um carreador ideal seria, portanto, uma molécula capaz de induzir baixa resposta de anticorpos a si mesma e alta resposta de anticorpos ao antígeno (POBRE

et al., 2014). Partículas semelhantes aos vírus, VLP's, do inglês *Virus-like particles*, são uma opção viável para aumentar a resposta de anticorpos a qualquer antígeno conjugado a eles, mesmo em imunizações frequentes. Em estudos com camundongos vacinados com peptídeo Salmonella como antígeno e VLP's de bacteriófago como carreador, foi observado que a supressão imune, quando utilizados VLP's, é fortemente reduzida quando se conjuga o antígeno proteico às VLP's de alta densidade, por injeções repetidas e aumentando-se a dose da vacina. De tal forma, observa-se que CIES é superado como remodelamento de desenho de vacina e de protocolo de imunização (JEGERLEHNER, et al., 2010).

A hipótese da cascata A β ocupa posição dominante nas propostas de mecanismos patológicos da DA e, conseqüentemente, grande parte dos estudos, tanto preventivos quanto terapêuticos, foram coordenados a partir desta teoria. No entanto, como já explanado, a proteína tau tem papel importante na patologia da DA de forma que, uma vacina direcionada à esta, é crítica para inibir o processo de fosforilação da proteína e sua agregação excessiva, visando a estabilização dos microtúbulos com a conseqüente manutenção da função fisiológica normal de neurônios (JI et al., 2021).

A eficácia de uma vacina direcionada a tau foi demonstrada, pela primeira vez, em 2007. A vacina era constituída de fragmento de tau hiperfosforilada, abrangendo os aminoácidos 379-408, compreendendo serinas 396 e 404 fosforiladas (AGADJANYAN et al., 2015). Em camundongos transgênicos superexpressando tau-P301L mutante humano (uma mutação no gene da proteína tau associada a microtúbulos mais frequentemente observada em pacientes com demência) a produção de anticorpos anti-tau foi suficiente para diminuir a patologia da tau no cérebro destes e melhorou a função cognitiva dos mesmos (JI et al., 2021). O resultado desse estudo suportou a viabilidade do direcionamento de confôrmeros de tau patológicos em pacientes com DA.

A AADvac1, primeira vacina direcionada à tau, possui uma proteína tau truncada e mal dobrada, no domínio N-terminal, de resíduos 294-305, de ocorrência natural, conjugada com KLH e adjuvante hidróxido de alumínio (JI, SIGURDSSON, 2021). Nos estudos de fase I, o conjugado peptídeo-KLH induziu a produção de anticorpos contra tau em 96,7% dos pacientes e estes títulos aumentaram conforme o regime de doses (NOVAK et al., 2019). A cognição dos pacientes permaneceu estável e, em estudo de acompanhamento, os títulos de anticorpos diminuíram após

seis meses, sendo restaurados após a aplicação de doses de reforço. Foram relacionadas as taxas de títulos com taxas de atrofia hipocampal, de forma que pacientes com título de anticorpos anti-tau mais elevados possuíam tendência à menor taxa de atrofia (JI, SIGURDSSON, 2021).

Em estudos de fase II, 80% dos pacientes que receberam o tratamento desenvolveram anticorpos anti-tau de alta afinidade. Estes reconheceram tau agregada no SNC de pacientes com DA e, em modelo celular, foram capazes de bloquear a captação neuronal de tau patológica. No entanto, não houve benefícios cognitivos significativos (JI, SIGURDSSON, 2021).

A ACI-35, segunda vacina candidata à produção de anticorpos à tau patológica, trata-se de vacina lipossômica constituída de peptídeo sintético de 15 aminoácidos, de 393 à 408, baseada na sequência sintética da tau humana fosforilada em serina 396 e serina 404, sítios principais de hiperfosforilação na patologia da DA, sendo indicadores periféricos da doença (SHI et al., 2020). Assim como em ACI-24, o peptídeo é tetrapalmitoilado formando lipossomas e entregue com o adjuvante lipídico A monofosforilado. Nos ensaios clínicos de fase I, embora os resultados tenham demonstrado segurança da formulação, os títulos de anticorpos anti-tau foram baixos mesmo em subseqüentes injeções de reforço. Os ensaios de fase II estão em andamento (JI, SIGURDSSON, 2021).

Como observado nos estudos clínicos, nos últimos anos, o desenvolvimento de vacinas contra DA teve enfoque em A β ou placas senis e proteína tau, isoladamente. No entanto, há evidências de que tau, em conjunto com A β , desempenha papel na patologia da DA. Dímeros solúveis de A β , de pacientes com DA, induzem a hiperfosforilação de tau e degeneração neurítica, demonstrando, portanto, a íntima relação entre ambas as proteínas quando presentes em células neurais (MARCIANI, 2015b).

Estudos *in vivo* anteriores demonstraram que a infusão intracerebral de extratos de cérebro contendo A β , de camundongos idosos, induziu a patologia de tau em camundongos jovens. Em outros estudos usando modelo de camundongo com nocaute genético para a proteína tau, preveniu-se a disfunção sináptica ocasionada pela exposição aguda ao A β 42. Não obstante, o mesmo estudo demonstrou que tau atua a jusante de A β (MARCIANI, 2015^a).

Visto que tau atua a jusante de A β , é imprescindível que a patologia A β seja contida para que mecanismos anti-tau tenham efeito significativo sobre a DA. Isto é

verificado nos estudos de fase II de AADvac1, em que os benefícios cognitivos dos pacientes imunizados não foram suficientemente significantes. De tal forma, uma opção viável seria o uso da imunização composta por antígenos relevantes, ou seja, fazer o uso de vacinas polivalentes. Visto o potencial para efeitos deletérios cooperativos entre proteínas A β e tau, a abordagem de vacinação multi-alvo torna-se válida para uso na patologia da DA (MARCIANI, 2015b).

O aumento no número de antígenos, no entanto, por efeito sinérgico, potencializa riscos de desenvolvimento de respostas imunológicas inflamatórias e prejudiciais. Há, mais uma vez, a necessidade crítica de imunoterapia que previna respostas Th1 prejudiciais e induzam respostas Th2 protetoras (MARCIANI, 2015b).

Considerando o modelo cronológico de biomarcadores da DA, em que as placas senis desenvolvem-se na fase inicial da DA e os emaranhados apresentam-se em fases posteriores da doença (USMAN et al., 2021), outra abordagem pode se dar através do uso de duas vacinas, uma composta pelos epítomos de células B relevantes de A β e outra por epítomos de células B relevantes de tau, ambos fundidos pelo mesmo carreador portador de epítomo de célula T não-própria, adequado para inibir o processo de CIES, e adjuvante responsáveis pela ativação de células Th de mesma especificidade. A imunoterapia ativa para A β deve ser iniciada nos estágios precoces ou iniciais e, posteriormente, deve-se utilizar ou trocar o esquema vacinal para tau nos estágios tardios, quando os sintomas clínicos se tornarem aparentes (AGADJANYAN et al., 2015).

Um estudo clínico deve ser avaliado em modelos animais, em ensaio denominado fase pré-clínica, para verificação de dados de eficácia, toxicidade e outros, demonstrando a segurança e potencial imunogênico da vacina. Esta fase pré-clínica é realizada *in vitro* e/ou *in vivo*, em modelos celulares e, principalmente, em animais. Pode-se questionar, portanto, o motivo pelo qual as vacinas para DA são eficazes em modelos animais, mas falham (parcialmente ou completamente) em humanos. Outra razão em evidência é que, nos animais transgênicos, principalmente camundongos, a imunoterapia ativa através de vacinas funciona em modo preventivo, em animais pré-sintomáticos, enquanto que, em pacientes com DA, as mesmas atuam após o início da patologia e, portanto, de modo terapêutico (MARCIANI, 2015^a).

Houve pouca ou nenhuma consideração acerca das diferenças entre as vacinas utilizadas nos modelos animais e humanos e, também, sobre as disparidades nas respostas imunológicas entre as espécies. Esta disparidade pode ser evidenciada

pela vacina OS1792 em que o A β 42, agregado formulado com QS21 e OS80, produziu resultados promissores e sem efeitos colaterais em camundongos, mas, em pacientes com DA, produziu efeitos adversos graves (MARCIANI, 2015b). Isto se deve não somente à compreensão limitada da patologia como ao nível, também limitado, de tecnologia de modelagem de modelo animal (JI et al., 2021).

A indução da imunidade Th1 é resultado da estimulação da imunidade inata e, seguidamente, da imunidade adaptativa. Este mecanismo é dependente do receptor da imunidade inata envolvido no processo como, por exemplo, os receptores *toll-like*, moléculas de superfície presentes nas células de defesa responsáveis pelo reconhecimento de patógenos. A estimulação simultânea de diferentes receptores resulta num efeito sinérgico na modulação da resposta imune. O efeito sinérgico advém de interações entre diversas e independentes vias imunomoduladoras. Isto também pode explicar as diferenças nos resultados obtidos dos ensaios clínicos em animais e a falha dos mesmos no desenvolvimento da vacina plenamente eficaz contra a patologia da DA em humanos (MARCIANI, 2015^a).

Para contornar tal problema, deve-se estabelecer o modelo mais adequado de animais com DA que reflita de maneira mais eficiente o estado patológico dos pacientes com DA, já que o modelo animal é de extrema importância nos ensaios clínicos, dada a limitação da pesquisa clínica nos pareceres éticos. Um modelo animal ideal simula o percurso da DA em humanos, permitindo a exploração da etiologia, patogênese e estratégias de tratamento. Estes modelos adequados advém do advento de novas tecnologias de edição de genes. Dentre estes, CRISPR, Sistema de Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas, do inglês *Clusters of Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, auxilia no processo de modificação genética precisa e específica em cadeias de DNA além de gerar rearranjos genômicos, acelerando o processo de construção de modelo mais eficazes de animais (JI et al., 2021).

Os ensaios clínicos ainda não promoveram descobertas acerca de consequências fisiológicas ou patológicas da depuração de A β e emaranhados neurofibrilares a longo prazo. Não há, portanto, dados conclusivos da eficácia da depuração crônica destas proteínas sem repercussões futuras na função cerebral dos pacientes, ou seja, não se tem dados acerca do potencial encefalitogênico e Alzheimer os da imunoterapia para A β e tau (CACABELOS, 2019). A dificuldade destes estudos a longo prazo, para a vacina contra DA, se relacionam a dois fatores:

(I) primariamente, os estudos em humanos tiveram início há, aproximadamente, 20 anos, com falhas no desenho do estudo clínico e promoção de eventos adversos graves, encerrando os estudos; e (II), devido a fragilidade, multimorbidade e deficiências, idosos necessitam de apoio para participar dos estudos clínicos, de forma que são necessários procuradores para assinar os termos e formulários de consentimento informado, o que gera risco de desistência. Ainda, devido às condições inerentes à DA, estes pacientes adoecem, são hospitalizados ou falecem. Estas desistências ou baixas em número de participantes diluem os achados dos ensaios clínicos e diminuem o poder do estudo devido insuficiência do delineamento do ensaio clínico (PITKALA, STRANDBERG, 2022). A concepção destes ensaios clínicos em pacientes idosos representa, portanto, um conjunto de desafios no que tange ao recrutamento e retenção dos pacientes durante todo o estudo e na análise de dados. Estratégias devem ser desenvolvidas em todas as fases do desenho do estudo. Deve-se incorporar metodologia estatística adequada para dados ausentes, estratégia para minimizar a falta de dados no desenho do estudo (CARROLL, ZAJICEK, 2011).

Estes estudos, em humanos, apenas reproduzem procedimentos utilizados para testes clínicos de sintomatologia em pacientes já com estado de demência. De tal forma, há evasão de dados acerca de intervenção profilática da vacina da DA para retardar o início da doença ou, numa condição ideal, evitar a patologia da DA. Há, portanto, a necessidade de estudos clínicos aprimorados para a doença. Neste sentido, autoridades reguladoras que acompanham os estudos clínicos, juntamente com a comunidade científica e a indústria farmacêutica, devem conceber novos protocolos para ensaios clínicos de intervenção preventiva na DA (CACABELOS, 2019).

As visões emergentes indicam que os pacientes devem ser imunizados mais cedo, idealmente num estágio prodrômico ou em ausência de sintomas clínicos. Em todos os estudos, os pacientes inseridos nos ensaios clínicos foram, tradicionalmente, diagnosticados com DA leve a moderada. A segmentação de A β e tau, mesmo nesta fase da patologia, pode ser tarde demais. Diversos estudos sugerem que os níveis de A β solúvel aumentam precocemente na progressão da DA e precedem os sintomas clínicos. De tal forma, a população alvo ideal para a prevenção da DA deve ser constituída por pacientes com DA precoce, tendo comprometimento cognitivo leve. No entanto, não há biomarcadores de diagnóstico sensíveis e específicos o suficiente para detectar estes pacientes com precisão (LANNFELT et al., 2014b).

O diagnóstico diferencial da DA precoce têm sido a condição clínica de maior incerteza diagnóstica. Não há dados disponíveis sobre mudanças nos desfechos de saúde, como incapacidade, mortalidade, morbidade ou qualidade de vida, devido à falta de tratamentos eficazes no retardo da progressão da doença (FRISONI et al., 2017). Pesquisas têm estudado o uso de biomarcadores como ferramenta de diagnóstico para prever a patologia em pacientes assintomáticos. Uma das técnicas em análise é a imagem por tomografia de emissão de pósitrons, em que é possível visualizar a deposição de placas A β . Marcadores adicionais que podem ser utilizados para auxiliar tanto o diagnóstico quanto avaliação da progressão da doença são os níveis de A β e tau no LCR que se mostram alterados em pacientes com DA (FETTELSCHOSS et al., 2014). No LCR, há diminuição de A β 42 e aumento de isoformas de tau. Os menores níveis de A β 42 são reflexo do aumento da agregação e deposição destes no cérebro. O aumento das isoformas de tau, tanto fosforiladas quanto as não fosforiladas, refletem diretamente a perda neuronal cortical (PORSTEINSSON et al., 2021).

Indivíduos cognitivamente saudáveis, no entanto, apresentam biomarcadores de patologia A β e patologia tau e, ainda assim, não desenvolvem manifestações clínicas da doença durante a vida. Estudos *post mortem* de numerosos indivíduos cognitivamente intactos demonstram presença de lesões cerebrais por A β e tau na população acima dos 70 anos. Ainda, estudos recentes, identificaram concentrações mais baixas de tau fosforilada e tau total no LCR de pacientes afro-americanos em comparação com pacientes brancos. Estes resultados indicam que se deve ter cautela ao aplicar limites de biomarcadores advindo de estudos observacionais com dados demográficos que, por ventura, possam não refletir dados da população geral. De tal forma, a validação da utilidade clínica desses biomarcadores ainda é incompleta. O que ocorre é que não há padronização de leitura desses ensaios e ideais de limites de normalidade, o que dificulta a avaliação do desempenho destes na detecção precoce da patologia (FRISONI et al., 2017, THERRIAULT et al., 2022).

Para pacientes que já possuem declínio cognitivo considerável, com a formação de placas A β e emaranhados neurofibrilares evidentes, as imunoterapias devem ser avaliadas como tratamento estabilizador da patologia. No entanto, a longa meia-vida de anticorpos com a falta dos marcadores de efeito sensíveis e estáveis torna a dosagem ideal desafiadora. De tal forma, o desenho de ensaio clínico deve

ser otimizado para encontrar os regimes de dose corretos para cada estágio da DA (LANNFELT et al., 2014b).

5. CONCLUSÃO

Considerando a DA como uma crise médica em expansão, as sociedades devem se adequar às mudanças de realidades demográficas e, de tal forma, antecipar as tendências populacionais e suas características inerentes de saúde, incorporando estes dados em políticas públicas. A DA é um problema de saúde global não só pelo aumento de número de casos em concomitância com o aumento de taxa de população de idosos como, também, devido à sua complexidade de mecanismos patológicos. A análise de vias imunoterapêuticas, em destaque para a imunoterapia ativa através de vacinas, com alvo na proteinopatia, têm trazido esperança aos cientistas e pacientes como métodos para cura da DA, através da remoção de placas A β e emaranhados neurofibrilares, ou retardo da progressão da doença pela mitigação do declínio cognitivo.

As hipóteses acerca dos efeitos da remoção do excesso de A β e emaranhados neurofibrilares do cérebro destes pacientes levaram os estudos de vacinas direcionadas à DA a se concentrarem na redução destas placas senis e na estabilização dos microtúbulos de neurônios através da geração de anticorpos específicos induzidos por imunização ativa. As vacinas candidatas a imunoterápicos, até o presente momento, demonstram as limitações das pesquisas e ensaios clínicos.

A compreensão limitada acerca dos mecanismos descritos como indutores da patologia da DA, como os fatores genéticos e proteínas plasmáticas e cerebrais, incluindo a sua clivagem, abre espaço para os gargalos acerca dos alvos imunoterapêuticos mais assertivos. Apesar da análise de estudos de mapeamento dos antígenos proteicos, as respostas imunes obtidas não se apresentaram suficientes para garantir benefício clínico. Considerando a estreita relação entre A β e tau, a terapia de combinação deve ter especial atenção no direcionamento de antígenos para a produção de anticorpos. Esta vacina polivalente deve ser capaz de induzir respostas imunomediadas contra dois antígenos diferentes.

As adversidades encontradas para as formulações vacinais concentram-se na busca de adjuvantes eficazes e capazes de aumentar as respostas Th2, anti-inflamatórias, necessárias ao indivíduos imunossenescentes, além de inibir a imunidade Th1, pró-inflamatória, que é potencialmente danosa aos idosos que já possuem estado neuroinflamatório em evidência. Existe grande quantidade de compostos que demonstram ter ação adjuvante, no entanto, poucos são aprovados

para uso em humanos, o que, até então, tem tornado inviável fornecer novas propostas de composição vacinal. Alúmen, até recentemente o único adjuvante Th2 utilizado em vacinas, não induz, de forma eficiente, a imunidade requerida no público alvo desta imunoterapia. A procura por novos produtos com este potencial tem se concentrado em compostos advindos de helmintos. No entanto, o entrave a estes se dá pelo alto preço de produção, limitando sua utilização.

Apesar de demonstrarem resultados promissores em fase pré-clínica de testes em modelo animal, em humanos os resultados apresentaram lacunas. Apesar dos avanços tecnológicos na produção de animais transgênicos, as diferenças entre espécies não mimetizam, de forma absoluta, as vias imunomoduladoras de humanos. Os riscos inerentes a extrapolação dos modelos para o seres humanos abrangem que a inocuidade ou eficiência de compostos em animais pode ser nocivo ou ineficaz em humanos. De tal forma, os modelos animais mais adequados ainda são impasse no desenvolvimento de vacinas para a DA e devem ser superados o quanto antes.

Ainda que haja alguns resultados positivos advindos das descobertas acerca da especificidade de anticorpos produzidos após a vacinação, os dados publicados não podem contemplar o benefício a longo prazo da imunização e as consequências advindas da depuração da proteinopatia característica a DA. A falta de dados, considerando que as pesquisas na área têm somente 20 anos, é uma exigência que deve levar anos para ser ultrapassada e dependerá da superação das demais dificuldades inerentes à pesquisa de vacinas para a DA de forma que os estudos devem progredir para fases novas clínicas e incluir estudos de acompanhamento a longo prazo. As baixas no número de participantes do estudo, devido a morte ou desistência também apresentam impasse para a análise a longo prazo, considerando o menor número de dados, que diminuem o poder de predição do estudo.

Os estudos têm utilizado pacientes com a patologia da DA já evidente. De tal forma, a análise de dados não engloba o uso de vacinas para a prevenção da patologia. A adversidade ao recrutamento de pacientes em estado precoce se dá pela falta de biomarcadores sensíveis que delimitem os limiares entre indivíduos saudáveis e indivíduos com a patologia da DA.

As direções a serem exploradas em pesquisas futuras para imunoterapia ativa para a patologia da DA são claras: devem ser alcançados maiores títulos de anticorpos destinados à alvos específicos de seu multifatorial mecanismo patológico e otimizar as características qualitativas destes que devem se manter em níveis

séricos e persistentes após a imunização. É necessário o aprofundamento acerca do conhecimento da interação dos imunógenos com o sistema imunológico do paciente e a capacidade de evasão ou neutralização dos mecanismos de imunidade, tanto inata quanto adaptativa, bem como o momento ideal para a vacinação como método de prevenção e como método cura. De tal forma, mais pesquisas se justificam para suprir todas as dificuldades encontradas pelos pesquisadores.

6. REFERÊNCIAS

AGADJANYAN, M. G.; PETROVSKY, N.; GHOSHIKYAN, A. A fresh perspective from immunologists and vaccine researchers: active vaccination strategies to prevent and reverse Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**, v. 11, n. 10, p. 1246-1259, 2015.

AMBROSE, C. T. Alzheimer's Disease: The Great Morbidity of the 21st Century. **American Scientist**, v. 101, n. 3, p. 194, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Diretrizes e Recomendações para o Cuidado Integral de Doenças crônicas Não-Transmissíveis: promoção da saúde, vigilância, prevenção e assistência. Brasília: MS, 2008.

BURGALETTO, C. et al. The immune system on the TRAIL of Alzheimer's disease. **Journal of Neuroinflammation**, v. 17, n. 1, p. 1-11, 2020.

CACABELOS, R. How plausible is an Alzheimer's disease vaccine? **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 15, n. 1, p. 1-6, 2019.

CARROLL, C. B.; ZAJICEK, J. P. Designing clinical trials in older people. **Maturitas**, v. 68, n. 4, p. 337-341, 2011.

CHEN, G. F. et al. Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 38, n. 9, p. 1205–1235, 2017.

DETURE, M. A.; DICKSON, D. W. The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. **Molecular neurodegeneration**, v. 14, n. 1, p. 1-18, 2019.

FETTELSCHOSS, A.; ZABEL, F.; BACHMANN, M. F. Vaccination against Alzheimer disease: an update on future strategies. **Human vaccines & immunotherapeutics**, v. 10, n. 4, p. 847-851, 2014.

FLEMING, R., ZEISEL, J. & BENNETT, K. 2020. **World Alzheimer Report 2020: Design Dignity Dementia: dementia-related design and the built environment**. Volume 1. London, England: Alzheimer's Disease International, 2020.

FRISONI, G. B. et al. Strategic roadmap for an early diagnosis of Alzheimer's disease based on biomarkers. **The Lancet Neurology**, v. 16, n. 8, p. 661-676, 2017.

GOTTLIEB, M. G. V.; MORASSUTTI, A. L.; CRUZ, I. B. M. da. Transição epidemiológica, estresse oxidativo e doenças crônicas não transmissíveis sob uma perspectiva evolutiva. **Scientia Medica**, v. 21, n. 2, p. 69-80, 2011.

JEGERLEHNER, A. et al. Carrier induced epitopic suppression of antibody responses induced by virus-like particles is a dynamic phenomenon caused by carrier-specific antibodies. **Vaccine**, v. 28, n. 33, p. 5503-5512, 2010.

JI, C.; SIGURDSSON, E. M. Current status of clinical trials on tau immunotherapies. **Drugs**, v. 81, n. 10, p. 1135-1152, 2021.

Ji, W. et al. Recent Progress Towards Vaccines and Antibody-based Therapies Against Alzheimer's Disease. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 19, p. 3062-3072, 2021.

KABIR, M. T. et al. Emerging Promise of Immunotherapy for Alzheimer's Disease: A New Hope for the Development of Alzheimer's Vaccine. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 13, p. 1214-1234, 2020.

KNOPMAN, D. S. et al. Alzheimer disease. **Nature reviews Disease primers**, v. 7, n. 1, p. 1-21, 2021.

LANNFELT, L.; RELKIN, N. R.; SIEMERS, E. R. Amyloid- β -directed immunotherapy for Alzheimer's disease. **Journal of internal medicine**, v. 275, n. 3, p. 284-295, 2014a.

LANNFELT, L. et al. Perspectives on future Alzheimer therapies: amyloid- β protofibrils-a new target for immunotherapy with BAN2401 in Alzheimer's disease. **Alzheimer's research & therapy**, v. 6, n. 2, p. 1-8, 2014b.

LOBELLO, K. et al. Targeting Beta amyloid: a clinical review of immunotherapeutic approaches in Alzheimer's disease. **International journal of Alzheimer's disease**, v. 2012, 2012.

MANDLER, M. et al. Tailoring the antibody response to aggregated A β using novel Alzheimer-vaccines. **PloS One**, v. 10, n. 1, p. e0115237, 2015.

MARCIANI, D. J. Alzheimer's disease: Toward the rational design of an effective vaccine. **Revista de Neuro-Psiquiatria**, v. 78, n. 3, p. 140-152, 2015a.

MARCIANI, D. J. Alzheimer's disease vaccine development: A new strategy focusing on immune modulation. **Journal of Neuroimmunology**, v. 287, p. 54-63, 2015b.

MESQUITA JÚNIOR, D. et al. Sistema Imunitário – Parte II: Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Revista Brasileira De Reumatologia**, v. 50, n. 5, p. 552-580, 2010.

NEUNER, S. M.; JULIA, T. C. W.; GOATE, A. M. Genetic architecture of Alzheimer's disease. **Neurobiology of disease**, v. 143, p. 104976, 2020.

NOVAK, P. et al. AADvac1, an active immunotherapy for Alzheimer's disease and non Alzheimer tauopathies: an overview of preclinical and clinical development. **The journal of prevention of Alzheimer's disease**, v. 6, n. 1, p. 63-69, 2019.

ORGOGOZO, J. M. et al. Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after A β 42 immunization. **Neurology**, v. 61, n. 1, p. 46-54, 2003.

PARROCHA, C. M. T.; NOWICK, J. S. Current peptide vaccine and immunotherapy approaches against Alzheimer's disease. **Peptide Science**, p. E24289, 2022.

PÎRȘCOVEANU, D. F. V. Et al. Tau protein in neurodegenerative diseases-a review. **Rom. J. Morphol. Embryol**, v. 58, n. 4, p. 1141-1150, 2017.

PITKALA, K. H.; STRANDBERG, T. E. Clinical trials in older people. **Age and Ageing**, v. 51, n. 5, p. afab282, 2022.

POBRE, K. et al. Carrier priming or suppression: understanding carrier priming enhancement of anti-polysaccharide antibody response to conjugate vaccines. **Vaccine**, v. 32, n. 13, p. 1423-1430, 2014.

PORSTEINSSON, A. P. et al. Diagnosis of early Alzheimer's disease: Clinical practice in 2021. **The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease**, v. 8, n. 3, p. 371-386, 2021.

RAFII, M. S. Et al. ACI-24 in adults with Down syndrome: Results of a phase 1b, randomized, placebo-controlled study. **Alzheimer's & Dementia**, v. 17, p. e057427, 2021.

SCHENK, D. et al. Immunization with amyloid- β attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. **Nature**, v. 400, n. 6740, p. 173-177, 1999.

SCHRAMM, J. M. A. et al. Transição epidemiológica e o estudo de carga de doença no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 9, n. 4, p. 897-908, 2004.

SHI, Y. et al. Platelet amyloid- β protein precursor (A β PP) ratio and phosphorylated tau as promising indicators for early Alzheimer's disease. **The Journals of Gerontology: Series A**, v. 75, n. 4, p. 664-670, 2020.

STERNER, R. M.; TAKAHASHI, P. Y.; AIMEE, C. Active vaccines for Alzheimer disease treatment. **Journal of the American Medical Directors Association**, v. 17, n. 9, p. 862. e11-862. e15, 2016.

TEPPER, K. et al. Oligomer formation of tau protein hyperphosphorylated in cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 49, p. 34389-34407, 2014.

TERRIAULT, J. et al. Staging of Alzheimer's disease: past, present, and future perspectives. **Trends in Molecular Medicine**, v. 28, n. 9, p. 726-741, 2022.

UNITED NATIONS. **World Population Ageing 2019: Highlights**. Department of Economic and Social Affairs, Population Division. 2019.

USMAN, M. B. et al. Immunotherapy for Alzheimer's disease: current scenario and future perspectives. **The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease**, v. 8, n. 4, p. 534-551, 2021.

WELLER, J.; BUDSON, A. Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment. **F1000Research**, v. 7, p. 1161, 2018.

YIANNOPOULOU, K. G.; PAPAGEORGIOU, S. G. Current and future treatments for Alzheimer's disease. **Therapeutic Advances in Neurological Disorders**, v. 6, n. 1, p. 19-33, 2012

YUSUF, M. et al. Brain targeted Polysorbate-80 coated PLGA thymoquinone nanoparticles for the treatment of Alzheimer's disease, with biomechanistic insights. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 61, p. 102214, 2021.

05/12/2022



Data e assinatura do aluno(a)

05/12/2022



Data e assinatura do orientador(a)