



**UAlg FCT**

UNIVERSIDADE DO ALGARVE  
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

**O recetor histamínico H<sub>3</sub>: um novo alvo  
terapêutico no tratamento de doenças do  
Sistema Nervoso Central**

Marcelo Ramos Romão

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de:  
Professora Doutora Ana Isabel Azevedo Serralheiro

2021





**O recetor histamínico H<sub>3</sub>: um novo alvo  
terapêutico no tratamento de doenças do  
Sistema Nervoso Central**

Marcelo Ramos Romão

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de:  
Professora Doutora Ana Isabel Azevedo Serralheiro

2021



# **O recetor histamínico H<sub>3</sub>: um novo alvo terapêutico no tratamento de doenças do Sistema Nervoso Central**

## **Declaração de autoria de trabalho**

Declaro ser o autor deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam na listagem de referências bibliográficas incluída neste trabalho.

---

**(Marcelo Ramos Romão)**

***Copyright* © 2021 Marcelo Ramos Romão**

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



“Mesmo que a rota da minha vida me conduza a uma estrela,  
nem por isso fui dispensado de percorrer os caminhos do mundo”

**José Saramago.**





## **Agradecimentos**

A realização desta monografia não teria seguido o mesmo curso sem aqueles que estiveram comigo desde o início.

À minha família, pai, mãe, avô, irmão e cunhada. Obrigado por moldarem todas as arestas do meu ser que culminaram na pessoa que sou hoje. Estou-vos eternamente grato.

Ao Fábio, Beatriz, Carolina, Laura, Zé, Francisco, Igor e Gamboias. Por serem o meu pilar, por serem um exemplo a seguir, por toda a força e por me apoiarem e estarem sempre *lá*. Obrigado por tudo.

Aos meus companheiros de viagem. Ao meu *Afonso*, Anna, Filipa, Carolina, Telma, Patii, Margarida, Bruno, Carlos, Catarina, Joana e Ricardo. Agradeço-vos pela amizade que construímos, pela partilha, pela entajuda nos momentos mais complicados e por todos os momentos de diversão. Que caminharemos sempre juntos.

Aos Serviços Farmacêuticos do Hospital de São Francisco Xavier e à equipa da Farmácia Alegro Montijo. Obrigado por todos os ensinamentos e por me tornarem num profissional de saúde mais completo.

Por fim, à minha orientadora, Professora Doutora Ana Serralheiro. Agradeço-lhe pela prontidão, pela disponibilidade, pela motivação e por todo o apoio ao longo desta jornada.

**Esta dissertação é para, e por vocês.**

**À vossa.**



## Resumo

A histamina é uma amina endógena sintetizada por várias células do organismo humano tendo, por isso, um papel de extrema importância em vários processos fisiológicos. No organismo, atua como um potente vasodilatador que leva ao aumento da permeabilidade vascular, exibe características de mediador inflamatório com capacidades quimiotáticas, e ainda intervém como estimulante da secreção ácida ao nível do trato gastrointestinal. Mais concretamente no Sistema Nervoso Central, a histamina comporta-se como um neurotransmissor, pelo que o sistema histaminérgico pode intervir de igual modo na fisiopatologia de algumas doenças do foro neurológico, como a narcolepsia, doença de Alzheimer, esquizofrenia, perturbação da hiperatividade e défice de atenção, e a obesidade. Contudo, a eficácia limitada da terapêutica atual para os sintomas cognitivos destas patologias, tem direcionado a indústria farmacêutica para a investigação e desenvolvimento de novos compostos anti-histamínicos com futura aplicação na prática clínica.

Desta forma, esta monografia apresenta uma revisão bibliográfica acerca da fisiopatologia da histamina nos diferentes sistemas de órgãos, assim como uma introdução aos recetores histamínicos conhecidos, e os respetivos anti-histamínicos já comercializados. O foco principal incide sobre o estudo dos compostos anti-histamínicos H<sub>3</sub> que integraram recentemente os ensaios pré-clínicos e clínicos com indicações terapêuticas para as patologias supramencionadas.

No caso da narcolepsia, os dados existentes na literatura não permitem retirar conclusões rigorosas acerca dos compostos estudados. Já na doença de Alzheimer, espera-se que os agentes anti-histamínicos H<sub>3</sub>, S 38093, SAR-110894, e AZD-5213, GSK-189254, GSK-239512, MK-3134 avancem num futuro próximo para ensaios clínicos de fase 1 e fase 2, respetivamente. Contudo, no caso da esquizofrenia e da perturbação da hiperatividade e défice de atenção, nenhum dos compostos avaliados promoveu benefício terapêutico em ensaios clínicos de fase 1 e fase 2, pelo que estes necessitarão de ser estudados em maior pormenor. Por último, e no que respeita à obesidade, aguarda-se a aplicação da betahistina, do pitolisant e do KSK-19 em ensaios clínicos de fase 1, face à evidência de propriedades anorexígenas em modelos animais. Até ao momento, os resultados obtidos permitem sustentar a possibilidade da exploração

do recetor H<sub>3</sub> como potencial alvo terapêutico no tratamento de algumas doenças do Sistema Nervoso Central.

**Palavras-chave:** Histamina, anti-histamínicos, recetor H<sub>3</sub>, ensaios clínicos, doenças do Sistema Nervoso Central

## Abstract

Histamine is an endogenous amine synthesized by several cells in the human body and therefore plays an extremely important role in various physiological processes. It acts as a potent vasodilator that leads to increased vascular permeability, exhibits characteristics of an inflammatory mediator with chemotactic capacities, and also acts as a stimulator of acid secretion in the gastrointestinal tract. More specifically in the Central Nervous System, histamine behaves as a neurotransmitter and therefore the histaminergic system may take part in the pathophysiology of some neurological diseases such as narcolepsy, Alzheimer's disease, schizophrenia, attention deficit and hyperactivity disorder and obesity. However, the limited efficacy of current therapy for the cognitive symptoms of these pathologies, has directed the pharmaceutical industry to the research and development of new antihistamine compounds with future application in clinical practice.

Thus, this monograph presents a bibliographic review on the physio(pathology) of histamine in the different organ systems as well as an introduction to known histamine receptors, and their antihistamines already marketed. The main focus is to study H<sub>3</sub> antihistamine compounds that have recently integrated pre-clinical and clinical trials with therapeutic indications for the above-mentioned pathologies.

Regarding narcolepsy, the lack of information in literature does not permit drawing rigorous conclusions about the compounds studied. In Alzheimer's disease, antihistamine agents H<sub>3</sub>, S 38093, SAR-110894, and AZD-5213, GSK-189254, GSK-239512, MK-3134 are expected to advance in the near future to phase 1 and phase 2 clinical trials, respectively. However, in schizophrenia and attention deficit and hyperactivity disorder, none of the compounds assessed resulted in therapeutic benefit neither in phase 1 or phase 2 clinical trials, so it will need to be studied in more detail. Finally, in what concerns to obesity, betahistine, pitolisant and KSK-19 are expected to be applied in phase 1 clinical trials, due to their anorectic properties evidenced in animal models. So far, the results obtained support the possibility to exploit the H<sub>3</sub> receptor as a potential therapeutic target in the treatment of some diseases of the Central Nervous System.

**Keywords:** Histamine, antihistamines, H<sub>3</sub> receptor, clinical trials, Central nervous system diseases

# Índice geral

Índice de Figuras .....	xi
Índice de Tabelas/Quadros .....	xii
Lista de Abreviaturas e Siglas .....	xiii
<b>I. HISTAMINA.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Nota histórica .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Síntese e metabolismo.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3. Papel fisiológico e fisiopatológico .....</b>	<b>6</b>
1.3.1. Sistema Nervoso Central .....	6
1.3.2. Sistema Cardiovascular .....	7
1.3.3. Sistema Respiratório e Pele .....	8
1.3.4. Sistema Gastrointestinal .....	9
<b>II. RECETORES HISTAMÍNICOS.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1. Recetor H<sub>1</sub> .....</b>	<b>10</b>
2.1.1. Anti-histamínicos H <sub>1</sub> .....	11
<b>2.2. Recetor H<sub>2</sub> .....</b>	<b>13</b>
2.2.1. Anti-histamínicos H <sub>2</sub> .....	14
<b>2.3. Recetor H<sub>3</sub> .....</b>	<b>15</b>
2.3.1. Vias de sinalização .....	16
<b>2.4. Recetor H<sub>4</sub> .....</b>	<b>18</b>
2.4.1. Anti-histamínicos H <sub>4</sub> .....	19
<b>III. ANTI-HISTAMÍNICOS H<sub>3</sub>.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1. Classificação farmacológica.....</b>	<b>21</b>
3.1.1. Anti-histamínicos H <sub>3</sub> imidazólicos.....	21
3.1.2. Anti-histamínicos H <sub>3</sub> não-imidazólicos.....	23
<b>3.2. Anti-histamínicos H<sub>3</sub> no tratamento da Narcolepsia.....</b>	<b>25</b>
3.2.1. Narcolepsia .....	25
3.2.2. Tratamento da Narcolepsia com anti-histamínicos H <sub>3</sub> .....	26

<b>3.3. Anti-histamínicos H<sub>3</sub> no tratamento da Doença de Alzheimer.....</b>	<b>29</b>
3.3.1. Doença de Alzheimer .....	29
3.3.2. Tratamento da Doença de Alzheimer com anti-histamínicos H <sub>3</sub> .....	31
<b>3.4. Anti-histamínicos H<sub>3</sub> no tratamento da Esquizofrenia .....</b>	<b>32</b>
3.4.1. Esquizofrenia .....	32
3.4.2. Tratamento da Esquizofrenia com anti-histamínicos H <sub>3</sub> .....	34
<b>3.5. Anti-histamínicos H<sub>3</sub> no tratamento da Perturbação de hiperatividade e défice de atenção .....</b>	<b>35</b>
3.5.1. Perturbação de hiperatividade e défice de atenção .....	35
3.5.2. Tratamento da Perturbação de hiperatividade e défice de atenção com anti- histamínicos H <sub>3</sub> .....	37
<b>3.6. Anti-histamínicos H<sub>3</sub> no tratamento da Obesidade .....</b>	<b>38</b>
3.6.1. Obesidade .....	38
3.6.2. Tratamento da Obesidade com anti-histamínicos H <sub>3</sub> .....	40
<b>3.7. Reflexão sobre as perspetivas futuras de tratamento.....</b>	<b>48</b>
<b>IV. Conclusão .....</b>	<b>51</b>
<b>Referencias bibliográficas .....</b>	<b>52</b>



## Índice de Figuras

<b>Figura I.1</b> – Estrutura química da histamina.....	1
<b>Figura I.2</b> – Representação simplificada do mecanismo de síntese neuronal e libertação da histamina a partir do aminoácido L-Histidina.....	4
<b>Figura I.3</b> – Esquema representativo das vias de biotransformação da histamina.....	5
<b>Figura I.4</b> – Representação ilustrativa da libertação de histamina na fenda sinática e o seu papel na modulação de vários neurotransmissores.....	7
<b>Figura II.1</b> – Representação esquemática dos potenciais efeitos adversos dos anti-histamínicos H <sub>1</sub> de 1 <sup>a</sup> geração.....	12
<b>Figura II.2</b> – Representação esquemática e simplificada das vias de sinalização mediadas pela ativação do recetor H <sub>3</sub> .....	16
<b>Figura III.1</b> – Estrutura base dos anti-histamínicos H <sub>3</sub> imidazólicos.....	21
<b>Figura III.2</b> – Estrutura química dos anti-histamínicos H <sub>3</sub> imidazólicos.....	22
<b>Figura III.3</b> – Estrutura base dos anti-histamínicos H <sub>3</sub> não-imidazólicos.....	23
<b>Figura III.4</b> – Estrutura química dos primeiros anti-histamínicos H <sub>3</sub> não-imidazólicos.....	24
<b>Figura III.5</b> – Representação esquemática das diferenças entre um cérebro saudável, em comparação com um cérebro com doença de Alzheimer.....	29
<b>Figura III.6</b> – Mecanismo de ação do metilfenidato.....	36
<b>Figura III.7</b> – Distribuição mundial da percentagem de adultos obesos em 2016.....	39
<b>Figura III.8</b> – Representação gráfica dos efeitos do composto KSK-19 nos ratinhos.....	42
<b>Figura III.9</b> – Representação gráfica dos efeitos do pitolisant nos ratinhos.....	45
<b>Figura III.10</b> – Representação gráfica do aumento de peso corporal acumulado dos ratinhos em função do tempo.....	48

## **Índice de Tabelas/Quadros**

**Tabela III.1** - Tabela representativa dos compostos anti-histamínicos estudados.....24

## Lista de Abreviaturas e Siglas

<b>AA</b>	Ácido araquidónico
<b>AC</b>	Adenilciclase
<b>ACh</b>	Acetilcolina
<b>AChE</b>	Acetilcolinesterase
<b>ALDH</b>	Aldeído desidrogenase
<b>AMPc</b>	Adenosina monofosfato cíclico
<b>APP</b>	Proteína transmembranar precursora amiloide (do inglês <i>Amyloid precursor protein</i> )
<b>ATP</b>	Adenosina trifosfato
<b>A<math>\beta</math></b>	Beta-amiloide
<b>BHE</b>	Barreira hematoencefálica
<b>CYP450</b>	Citocromo P450
<b>DA</b>	Doença de Alzheimer's
<b>DAG</b>	Diacilglicerol
<b>DAO</b>	Diamina oxidase
<b>EDRF</b>	Fator relaxante derivado do endotélio (do inglês, <i>Endothelium derived relaxing factor</i> )
<b>EMA</b>	Agência Europeia do Medicamento (do inglês, <i>European Medicines Agency</i> )
<b>Fc<math>\epsilon</math>RI</b>	Recetor de alta afinidade para a IgE
<b>GABA</b>	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
<b>GDP</b>	Guanosina difosfato
<b>GTP</b>	Guanosina trifosfato
<b>GIRK</b>	Canais de potássio internos retificadores acoplados à proteína G (do inglês,

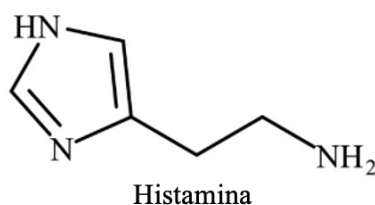
	<i>G protein-coupled inwardly-rectifying potassium channel</i> )
<b>GMPC</b>	Guanosina monofosfato cíclico
<b>GM-CSF</b>	Fator estimulante de colónias de granulócitos e macrófagos (do inglês, <i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i> )
<b>GPCR</b>	Recetor acoplado à proteína G (do inglês, <i>G protein-coupled receptor</i> )
<b>HDC</b>	Histidina descarboxilase
<b>HNMT</b>	Histamina N-metiltransferase
<b>IgE</b>	Imunoglobulina E
<b>IL</b>	Interleucina
<b>IMC</b>	Índice de massa corporal
<b>IP<sub>3</sub></b>	Inositol trifosfato
<b>MAO</b>	Monoamina oxidase
<b>MAPK</b>	Mitogénio ativador das proteínas cinase
<b>NHE</b>	Permutador de Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> (do inglês, <i>Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger</i> )
<b>NMDA</b>	N-metil-D-aspartato
<b>NA</b>	Noradrenalina
<b>NF-κB</b>	Fator nuclear kappa B (do inglês, <i>Nuclear factor kappa B</i> )
<b>NTM</b>	Núcleo tuberomamilar
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>PHDA</b>	Perturbação de hiperatividade e défice de atenção
<b>PI3K</b>	Fosfatidilinositol-3-cinase (do inglês, <i>Phosphatidylinositol 3-Kinase</i> )
<b>PKA</b>	Proteína cinase A (do inglês, <i>Protein kinase A</i> )
<b>PKB</b>	Proteína cinase B (do inglês, <i>Protein kinase B</i> )
<b>PKC</b>	Proteína cinase C (do inglês, <i>Protein kinase C</i> )

<b>PLA2</b>	Fosfolipase A2
<b>PLC</b>	Fosfolipase C (do inglês, <i>Phospholipase C</i> )
<b>SI</b>	Sistema imunitário
<b>SDE</b>	Sonolência diurna excessiva
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de necrose tumoral alfa
<b>TVM</b>	Transportador vesicular de monoaminas
<b>5-HT</b>	Serotonina



## I. HISTAMINA

A histamina (Figura I.1) é uma amina biogénica endógena que se encontra distribuída por todos os tecidos e órgãos do organismo humano, sendo, por isso, um mediador de extrema importância envolvido em vários processos biológicos. O termo histamina deriva do grego *histos*, que significa tecido. Uma vez que foi a primeira amina biogénica a ser caracterizada, esta molécula corresponde a uma das substâncias endógenas mais estudadas na Medicina. (1)



**Figura I.1** – Estrutura química da histamina. Adaptado de (2)

### 1.1. Nota histórica

No início do século XX, a histamina era conhecida pelo seu nome químico, β-aminoetilimidazol. (3) A síntese química da histamina, a partir da descarboxilação do aminoácido histidina, foi descrita por Windaus e Vogt, em 1907. (4) Contudo, até à data, ainda não haviam sido descobertos os seus efeitos biológicos.

O seu papel no organismo humano foi estudado pelos cientistas Dale e Laidlaw, em 1910, tendo sido caracterizados pela primeira vez os efeitos fisiológicos da histamina, entre eles, a vasodilatação, a depressão do sistema nervoso central (SNC), a contração da musculatura lisa das vias aéreas, e ainda, a estimulação da contratilidade e frequência cardíacas. Para além disso, concluíram também através dos seus estudos que a histamina e o choque anafilático estavam intimamente relacionados. (1) (3)

Desde então, o interesse desta molécula endógena aumentou exponencialmente, e foi em 1920, que Popielski reportou os seus efeitos ao nível do sistema gastrointestinal, atribuindo-lhe propriedades estimuladoras da secreção de ácido clorídrico no estômago. (1) (3) Em 1927, Best *et al.* concluiu que a histamina representava uma molécula natural do corpo humano, ao isolar amostras de pulmão e fígado. (5)

O farmacologista Daniel Bovet, em 1937, iniciou assim, uma procura intensa com o objetivo de encontrar, ou sintetizar, compostos moleculares com atividade anti-histamínica e que bloqueassem a ação da histamina em reações anafiláticas. (4) Em 1948, Folkow entendeu que os anti-histamínicos para surtir o efeito pretendido, tinham de competir com a própria histamina por um recetor na superfície celular. Desta forma, Trendelenburg, identificou o primeiro recetor histamínico, H<sub>1</sub>, ao estudar amostras de brônquios e de íleo em murganhos. (5)

Mais tarde, Bovet observou que as 3 aminas conhecidas até então, a histamina, adrenalina, e acetilcolina (ACh), poderiam ser agrupadas em conjunto, uma vez que, para além das suas estruturas químicas serem parecidas, estas exerciam uma atividade fisiológica muito forte. Constatou, ainda, que à semelhança de vários alcalóides que interferiam com os efeitos da ACh, e de alguns venenos que neutralizavam a ação da adrenalina, deveriam existir, igualmente, moléculas capazes de reverter o funcionamento endógeno da histamina. (6) Neste sentido, em 1957, Daniel Bovet foi galardoado com o Prémio Nobel de Fisiologia ou Medicina pela descoberta de vários fármacos com ação inibitória de alguns compostos endógenos, como é o exemplo da histamina e outros neurotransmissores. O primeiro fármaco a ser descrito com propriedades anti-histamínicas foi denominado de 929 F, ou 2-isopropil-5-metilfenoxietil-dietilamina, em 1937, ao observar-se uma resposta positiva em porquinhos-da-índia induzidos com choque anafilático. Todavia, esta molécula nunca foi testada em humanos pela sua toxicidade associada. (1) O estudo de Bovet sobre esta nova classe terapêutica usada no tratamento de afeções alérgicas tomou elevadas proporções e, com o avançar do tempo, várias outras moléculas foram sintetizadas. O primeiro anti-histamínico a ser administrado a humanos foi a fenbenzamina, seguida da mepiramina, clorfeniramina, difenidramina, prometazina e hidroxizina. (5) (6)

Em 1964, Sir James Black denotou a existência de certas moléculas que inibiam os efeitos da histamina ao nível da frequência cardíaca e na secreção de ácido gástrico em ratos. Desta forma, foi descoberto um novo recetor da histamina, o recetor histamínico H<sub>2</sub>, que levou ao aparecimento dos seus primeiros antagonistas, a burimamida e a cimetidina. (3) (7) Este estudo, juntamente com a descoberta do propranolol, fizeram com que James Black recebesse, em 1988, o prémio Nobel de Fisiologia ou Medicina, revolucionando o tratamento das doenças cardiovasculares, e também o tratamento de úlceras pépticas gástricas. (7)



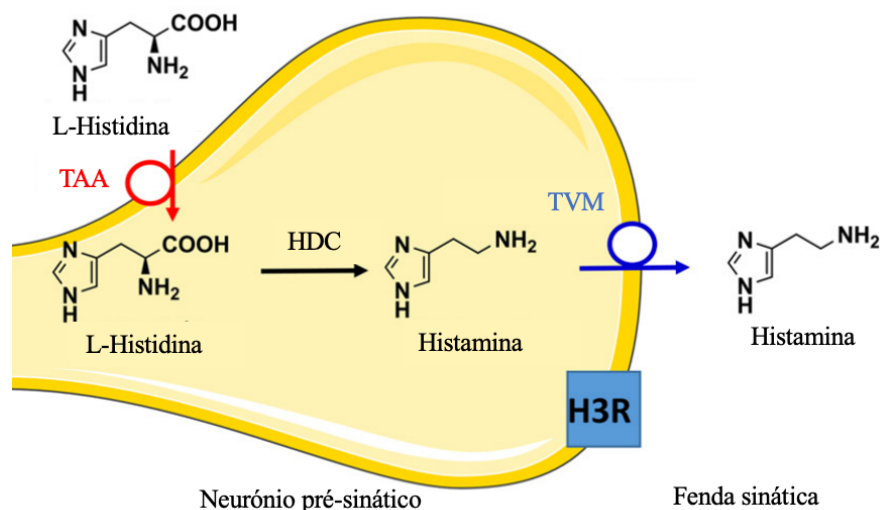
O recetor H<sub>3</sub> foi descoberto por Jean-Michel Arrang, J. C. Schwartz, e Monique Garbarg, em 1983, ao concluírem que a própria histamina inibia a sua libertação, pela ligação aos auto-recetores pré-sinácticos a partir de um mecanismo de *feedback* negativo, em cérebros de ratos. (1) A presença destes recetores nos neurónios pré-sinácticos evidenciou que os mesmos poderiam afetar a libertação de vários neurotransmissores como o glutamato, ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), dopamina, noradrenalina (NA) e ACh, atuando como hetero-recetores. (8) Os primeiros ligandos com afinidade para estes recetores foram, efetivamente, um agonista, a (R)- $\alpha$ -metilhistamina, e um antagonista, a tioperamida. (1) (3)

No final da década de 1990, uma época em que havia um constante estudo e, conseqüentemente, uma melhor compreensão do genoma humano, foi possível clonar os 3 recetores histamínicos conhecidos até à data. Durante este processo, observou-se a existência de uma sequência nucleotídica semelhante em 31% à sequência do recetor H<sub>3</sub>, que resultou na caracterização posterior do recetor H<sub>4</sub>. (3)

## **1.2. Síntese e metabolismo**

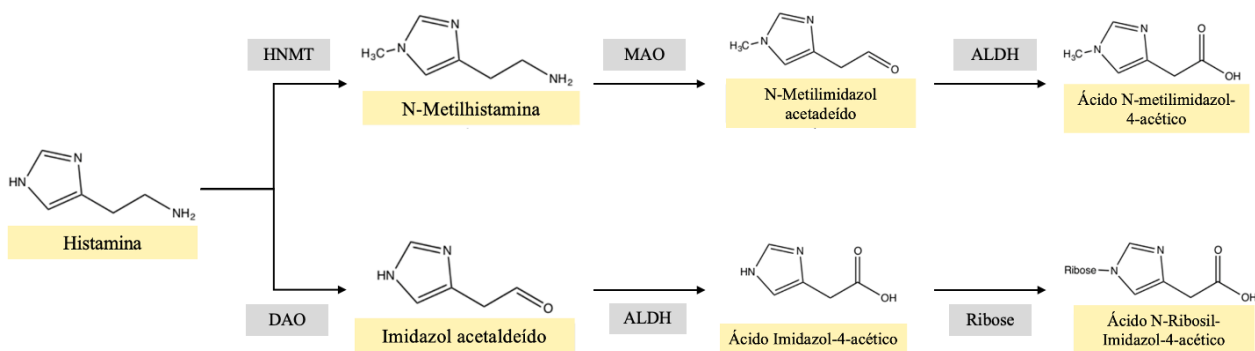
Ao nível do SNC, a histamina é sintetizada a partir de um aminoácido essencial, a L-Histidina, através de uma descarboxilação oxidativa mediada pela histidina descarboxilase (HDC) (Figura I.2). Este processo ocorre, exclusivamente, na porção posterior do hipotálamo, uma região cerebral denominada de núcleo tuberomamilar (NTM). Nesta área, para além de se encontrarem, aproximadamente, cerca de 64.000 neurónios histaminérgicos, encontram-se também outro tipo de neurónios fundamentais para a síntese de neurotransmissores do SNC. (9) Os neurónios histaminérgicos existentes no NTM têm uma projeção axónica muito alargada, uma vez que conseguem alcançar várias zonas do SNC como a espinal medula, o córtex cerebral e o cerebelo. (2)

A histamina produzida nos neurónios é, posteriormente, armazenada nos respetivos corpos celulares, sendo depois transportada para a fenda sinática através de um transportador vesicular de monoaminas, o TVM-2. (Figura I.2). (10)



**Figura I.2** – Representação simplificada do mecanismo de síntese neuronal e libertação da histamina a partir do aminoácido L-Histidina. O aminoácido entra no neurónio pré-sináptico através de um transportador de aminoácidos (TAA) e, posteriormente, será descarboxilado pela enzima histidina descarboxilase (HDC), originando a histamina. Esta será transposta para a fenda sinática através de um transportador vesicular de monoaminas (TVM), onde exercerá o seu efeito. Adaptado de (11)

Existem 2 vias principais de metabolização da histamina, que consistem essencialmente em reações de metilação ou oxidação (Figura I.3). Começando pela reação de metilação, a histamina, por intermédio da enzima histamina N-metiltransferase (HNMT), vai ser convertida a N-metilhistamina. Esta enzima é responsável, unicamente, pela inativação da histamina, sendo expressa num grande número de órgãos, como os rins, o fígado e o baço. Posteriormente, a N-metilhistamina, pela ação da monoamina oxidase (MAO) e, também da aldeído desidrogenase (ALDH), dá origem ao ácido N-metilimidazol-4-acético. Em alternativa, a histamina pode sofrer uma reação de oxidação, onde a enzima diamina oxidase (DAO), ou histaminase, irá exercer a sua função, dando origem ao imidazol acetaldeído. A histaminase é uma proteína responsável não só pela degradação da histamina extracelular, mas também de outras aminas biogénicas. É expressa principalmente ao nível do sistema digestivo, em maior parte nos intestinos. Seguidamente, o imidazol acetaldeído é transformado em ácido imidazol-4-acético pela presença da ALDH e finalmente conjugado com uma molécula de ribose, dando origem ao ácido N-ribosil-imidazol-4-acético. (12)



**Figura I.3** – Esquema representativo das vias de biotransformação da histamina. Existem 2 vias possíveis: a via representada em baixo corresponde à reação de oxidação, onde a histamina é oxidada pela diamin oxidase (DAO) dando origem ao imidazol acetaldeído. Este, pela ação da aldeído desidrogenase (ALDH), dá origem ao ácido imidazol-4-acético ao qual será adicionado uma molécula de ribose, culminando no ácido N-ribosil-imidazol-4-acético. Por outro lado, na via representada em cima, a histamina, pela ação da histamina N-metiltransferase (HNMT), é metilada e dá origem à N-metilhistamina. Este primeiro metabolito sofre depois a ação de outra enzima, a monoamina oxidase (MAO), formando-se N-metilimidazolacetaldeído, sendo finalmente convertido em ácido N-metilimidazol-4-acético na presença de ALDH. Adaptado de (12)

Para além da produção de histamina nos neurónios histaminérgicos no SNC, esta amina biogénica é igualmente sintetizada e armazenada na mucosa gástrica, onde desempenha um papel importante na secreção de ácido gástrico. (13)

No entanto, é nos mastócitos, ao nível do tecido conjuntivo, e também nos basófilos que circulam no sangue, onde existe a maior concentração de histamina no organismo humano. Os mastócitos, células derivativas da linhagem mielóide, migram da medula óssea até aos tecidos periféricos com objetivo de maturar e, desta forma, alcançar o seu estado funcional. Estão presentes em todos os tecidos do corpo humano, nomeadamente naqueles onde o ataque de microrganismos é mais facilitado e predominante, como são exemplo a pele, o trato respiratório e gástrico. Servem como células protetoras do sistema imunitário (SI) quando as barreiras físicas não são suficientes, ou seja, esta propriedade faz com que os mastócitos desempenhem um papel fulcral na resposta inflamatória. São, por isso, considerados como as células de primeira linha na defesa do SI contra microrganismos e compostos alérgenos potencialmente danosos. (14) (15)

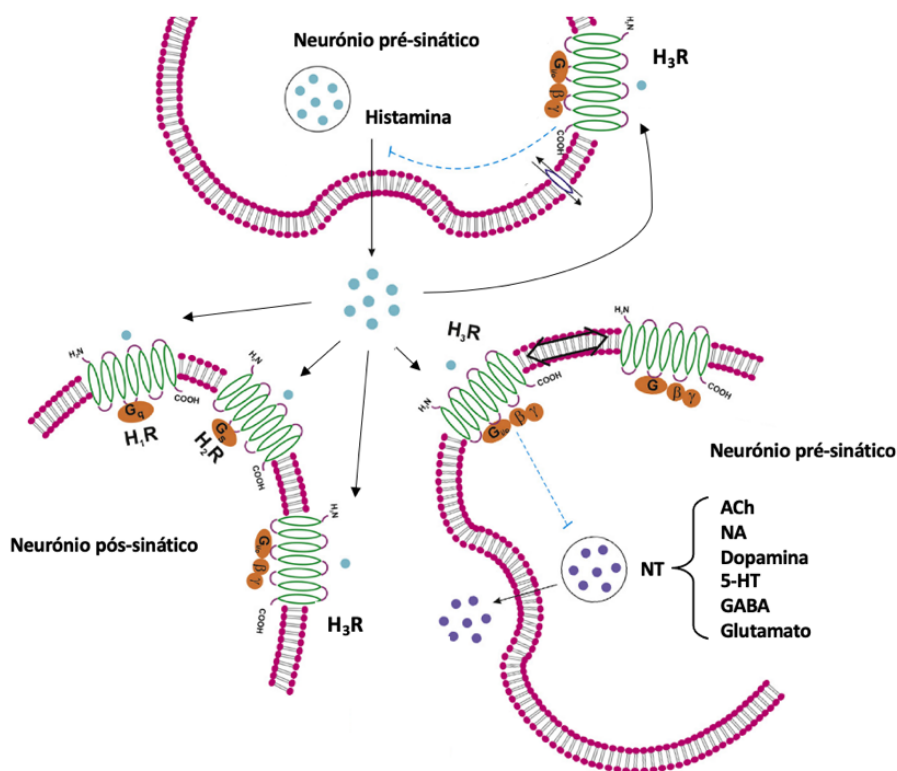
### **1.3. Papel fisiológico e fisiopatológico**

O papel fisiológico e fisiopatológico da histamina é, desde há muitos anos, bem conhecido. Dado que a sua produção ocorre em inúmeros tecidos e células no organismo humano, a histamina está envolvida em variados processos fisiológicos como é o exemplo da sua influência na libertação de neurotransmissores no SNC, na inflamação, na resposta imunológica e alérgica, e, também, na secreção de ácido gástrico. (16)

#### **1.3.1. Sistema Nervoso Central**

No SNC, a histamina comporta-se como um neurotransmissor. Vai estabelecer ligação com os auto-recetores histamínicos localizados nos terminais axónicos histaminérgicos, promovendo uma inibição da sua síntese e posterior libertação na fenda sinática. (Figura I.4) (17) O excesso de histamina que não exerce efeito é convertido num metabolito inativo, a tele-metilhistamina, pela ação da enzima HNMT. (18) Por outro lado, também surte efeito nos hetero-recetores da histamina em neurónios não-histaminérgicos, na medida em que modula a libertação de diversos neurotransmissores, tais como a ACh, NA, dopamina, serotonina (5-HT), GABA e glutamato. (Figura I.4) (17) (18) (19)

Neste sentido, a histamina revela ter um papel fundamental em variadas doenças causadas pela desregulação dos neurotransmissores mencionados anteriormente, como são exemplo, a doença de Alzheimer (DA), narcolepsia, perturbação de hiperatividade e défice de atenção (PHDA), esquizofrenia, e, ainda, a obesidade. (19)



**Figura I.4** – Representação ilustrativa da liberação de histamina na fenda sináptica e o seu papel na modulação de vários neurotransmissores. As setas a preto representam os possíveis caminhos da histamina, enquanto que as linhas tracejadas a azul ilustram os efeitos modulatórios da ligação da histamina com o respetivo recetor. A histamina pode interagir com o auto-recetor localizado pré-sinápticamente promovendo uma inibição da sua síntese a partir de mecanismos de *feedback* negativo. Exerce ainda efeito em neurónios pré-sinápticos não-histaminérgicos que sintetizam outros neurotransmissores. A ligação da histamina ao recetor histamínico nestes neurónios vai modular a liberação da acetilcolina (ACh), noradrenalina (NA), dopamina, serotonina (5-HT), ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), e glutamato. Adaptado de (19)

### 1.3.2. Sistema Cardiovascular

Um dos efeitos mais notórios e importantes da histamina neste sistema é a vasodilatação. A histamina ao ligar-se ao respetivo recetor localizado na membrana endotelial dos vasos sanguíneos, vai atuar como intermediário na formação de uma substância com propriedades vasodilatadoras, o fator relaxante derivado do endotélio (EDRF, do inglês, *Endothelium derived relaxing factor*), nos dias de hoje conhecido como óxido nítrico (NO). Este composto vai exercer uma ação relaxante ao nível do músculo liso que compõe a parede dos vasos sanguíneos por meio da ativação da enzima guanilato ciclase, que, por sua vez, aumenta a quantidade de guanosina monofosfato cíclico (GMPc). (20) Adicionalmente, a ligação da histamina ao recetor também é responsável pelo aumento da permeabilidade vascular com o conseqüente extravasamento de líquido intersticial para os tecidos adjacentes causando edema. (21)

A histamina encontra-se de igual modo presente em grande parte no coração. Perante um quadro de choque anafilático, muitas vezes a histamina aí presente pode conduzir a uma mudança na função cardíaca. No coração, a histamina vai ter um efeito inotrópico e cronotrópico positivos, promovendo assim um aumento da contratilidade e ritmo cardíacos, respetivamente. (21)

### **1.3.3. Sistema Respiratório e Pele**

Como supramencionado, a histamina está em grande parte situada nos grânulos dos mastócitos ao nível do trato respiratório. (13) O efeito mais relevante aquando da ligação da histamina com o recetor presente neste sistema é a broncoconstrição. (22) A histamina, exibe, também, propriedades de um potente mediador inflamatório com capacidades quimiotáxicas através do recrutamento de várias células inflamatórias como os eosinófilos, células dendríticas e mastócitos adicionais. (22)

A asma é uma doença inflamatória crónica e heterogénea, em grande parte caracterizada pela limitação do fluxo de ar causado pela broncoconstrição. (23) Quando um composto alérgeno penetra a barreira epitelial, quer do epitélio nasal, quer do epitélio pulmonar, origina uma cascata de sinalização a partir do contacto do alérgeno com a imunoglobulina E (IgE). Esta imunoglobulina está associada a um recetor membranar dos mastócitos, o recetor de alta afinidade para a IgE, ou FcεRI, que após ativação desencadeia a libertação de histamina por meio da desgranulação dos mastócitos. (14) No caso concreto da asma, o alérgeno vai provocar um quadro de inflamação das vias aéreas com a libertação de citocinas pró-inflamatórias a partir dos linfócitos T *helper* tipo 2 (Th2), onde as interleucinas 4 (IL-4), 5 (IL-5), e 13 (IL-13) vão desempenhar um papel importante no recrutamento de eosinófilos e basófilos. (24) Em simultâneo, ocorre também uma hipersecreção de muco associada a um extravasamento de plasma para a região da mucosa que culmina na obstrução das vias aéreas. (25)

Ao nível do epitélio nasal, a hipersecreção de muco vai originar uma estimulação de nervos sensoriais desencadeando comichão e espirros, ao mesmo tempo que é induzida uma vasodilatação pela ação da histamina, e, conseqüentemente, um edema da mucosa resultando na congestão nasal. (26)

À semelhança do que acontece no trato respiratório, também a pele é um órgão muito afetado pela ação da histamina. Os processos fisiológicos são semelhantes na medida em que frequentemente se observa uma reação de hipersensibilidade aquando do

contacto direto da pele com um alérgeno. Da interação entre o antigénio e o anticorpo (IgE) na superfície dos mastócitos, resulta um processo de desgranulação dos mastócitos a nível local com a posterior libertação da histamina perto de terminações nervosas da pele, favorecendo o desenvolvimento de uma reação alérgica caracterizada por prurido intenso, rubor e calor. (26) (27)

#### **1.3.4. Sistema Gastrointestinal**

A histamina é secretada pelas células tipo-enterocromafins localizadas na mucosa gástrica. A única função destas células é a produção e libertação de histamina, que terá um papel fundamental, a par da gastrina e da ACh, na estimulação da secreção de ácido gástrico por parte das células parietais da mucosa gástrica. Desta forma, vai ocorrer uma extrusão de  $H^+$  que se irá conjugar com o  $Cl^-$ , originando HCl no lúmen gástrico, potencialmente nocivo para a mucosa. (13) Pelo contrário, a libertação da histamina na mucosa gástrica é inibida, maioritariamente, pela somatostatina. (13) (28)

Existem, atualmente, 4 recetores histamínicos responsáveis pelos efeitos da histamina no organismo: os recetores  $H_1$ ,  $H_2$ ,  $H_3$  e  $H_4$ . Desta forma, e como consequência da ligação entre a histamina e os respetivos recetores, podemos obter diferentes efeitos, como as reações de hipersensibilidade, broncoconstrição, vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, hipersecreção gástrica, aumento da frequência cardíaca e alterações ao nível psicológico. (13) (14)

## **II. RECETORES HISTAMÍNICOS**

Os recetores histamínicos pertencem à família mais numerosa de proteínas membranares, denominados de recetores acoplados à proteína G (GPCR, do inglês *G protein-coupled receptor*). Esta família de recetores é caracterizada por um domínio de 7 hélices transmembranares envolvendo uma região N-terminal extracelular, e outra C-terminal intracelular. As proteínas G são constituídas por 3 subunidades:  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . A subunidade  $\alpha$  contém guanosina difosfato (GDP) que se converte em guanosina trifosfato (GTP) mediante a ativação pelo ligando, enquanto que as subunidades  $\beta$  e  $\gamma$  formam um complexo que, após a ativação do recetor, em conjunto com a subunidade  $\alpha$ , conduzirão

à transmissão do sinal a partir da adenilciclase (AC), fosfolipase C (PLC), canais iónicos e proteínas cinases. (29)

Os recetores histamínicos vão, desta forma, diferir entre si no que concerne ao local da sua expressão e distribuição no organismo, à sequência polipeptídica, ao sítio de ligação dos ligandos, às vias de sinalização, e, conseqüentemente, aos efeitos fisiológicos produzidos pela estimulação de cada um dos recetores. (30) (31)

Os GPCR são ativados, na sua maioria, por compostos endógenos, como é o exemplo de diversos neurotransmissores, hormonas, iões, lípidos, proteínas, entre outros ligandos. (31)

## 2.1. Recetor H<sub>1</sub>

O recetor histaminérgico H<sub>1</sub> encontra-se acoplado à proteína G $\alpha_{q/11}$  e é codificado por um gene localizado no cromossoma 3q25. (30) A sua ativação desencadeia uma série de reações de forma que haja a transmissão do sinal. Uma vez ativado, a partir da PLC, promove um aumento de trifosfato de inositol (IP<sub>3</sub>) e diacilglicerol (DAG). Este aumento de IP<sub>3</sub> e DAG levam a um aumento de iões Ca<sup>2+</sup> no espaço intracelular, e uma ativação da proteína cinase C (PKC), respetivamente. (30) (32)

Para além desta via de sinalização, existe outra na qual ocorre a formação de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) e do fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), que culmina numa expressão aumentada de mediadores inflamatórios, como as IL-1 e IL-6, fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), e o factor estimulante de colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF). (31)

O recetor H<sub>1</sub> é o principal responsável pelas reações alérgicas e inflamatórias. (30) É expresso, essencialmente, na musculatura lisa do endotélio e das vias aéreas. Contudo, encontra-se também no SNC, no trato gastrointestinal, nos neutrófilos, monócitos e linfócitos. (30) Os efeitos da histamina aquando da ligação a estes recetores são a broncoconstrição, a estimulação dos nervos sensoriais aferentes das vias aéreas, o aumento da permeabilidade vascular resultando em edema e na quimiotaxia de eosinófilos. (31) (33)



### 2.1.1. Anti-histamínicos H<sub>1</sub>

Os agentes anti-histamínicos H<sub>1</sub> exercem o seu efeito farmacológico ao ligar-se diretamente aos recetores H<sub>1</sub> localizados nas terminações nervosas da pele e nos vasos sanguíneos. Esta ligação resulta numa diminuição da apresentação de antígeno (alérgeno) às cadeias leves da IgE presente na membrana celular dos mastócitos, e, conseqüentemente, numa inibição da desgranulação dos mesmos. Desta forma, a expressão e libertação de citocinas pró-inflamatórias e a quimiotaxia de eosinófilos e basófilos vai ser diminuída. (34)

Atualmente, os anti-histamínicos H<sub>1</sub> podem ser divididos em 2 grupos: os anti-histamínicos de 1<sup>a</sup> geração e os anti-histamínicos de 2<sup>a</sup> geração. (34)

Os anti-histamínicos de 1<sup>a</sup> geração são compostos muito lipofílicos, pelo que têm uma facilidade acrescida em penetrar a barreira hematoencefálica (BHE). Assim, conseguem bloquear o efeito da histamina nos recetores H<sub>1</sub> presentes nos neurónios histaminérgicos pós-sinácticos. Como consequência, apresentam como principais efeitos adversos a sedação, o comprometimento da função cognitiva e a diminuição da neurotransmissão ao nível do SNC. (34) (35)

Esta classe de anti-histamínicos, para além de se ligar aos recetores histamínicos, pode do mesmo modo antagonizar outros recetores, como são exemplo os muscarínicos, os  $\alpha$ -adrenérgicos, os serotoninérgicos e os canais de cálcio cardíacos, pelo facto de exibirem uma fraca seletividade pelos recetores H<sub>1</sub>. (34) (35) Os potenciais efeitos adversos resultantes da ligação destes compostos aos recetores mencionados acima estão descritos na Figura II.1.



**Figura II.1** – Representação esquemática dos potenciais efeitos adversos dos anti-histamínicos H<sub>1</sub> de 1<sup>a</sup> geração resultantes da sua ligação aos recetores H<sub>1</sub>, muscarínicos, serotoninérgicos, α-adrenérgicos e nos canais de Ca<sup>2+</sup> cardíacos. Adaptado de (34)

Não obstante todos os potenciais efeitos adversos desta classe farmacológica, as suas aplicações clínicas continuam a ser pertinentes e bastante utilizadas nos dias de hoje. (36) Alguns exemplos de anti-histamínicos H<sub>1</sub> de 1<sup>a</sup> geração são: difenidramina, mepiramina, dimetindeno, hidroxizina, prometazina, dimenidrinato e clemastina. (34)

Estes são indicados no tratamento de reações alérgicas sazonais, como por exemplo a febre dos fenos, bem como nas alergias perenes, aliviando a sintomatologia de lacrimejo, rinorreia, e irritação ocular e nasal. Geralmente, podem ser associados a descongestionantes nasais como a pseudoefedrina. (36) Os anti-histamínicos H<sub>1</sub> são ainda utilizados no controlo do prurido que acompanha a pele atópica, bem como na dermatite de contacto e picadas de insetos. (36)

A nível central, podem ser utilizados em profilaxia ou como tratamento para náuseas associadas ao movimento, e também no síndrome de Ménière onde o indivíduo experiencia crises de vertigem. Os fármacos mais utilizados são o dimenidrinato e a cinarizina, respetivamente. (36) (37) A hidroxizina, para além das propriedades antialérgicas, é utilizada com recorrência nos distúrbios do sono e demonstra ser uma opção válida, como alternativa às benzodiazepinas, no tratamento da ansiedade generalizada. (38)

Com o objetivo de colmatar os potenciais efeitos adversos causados pelos anti-histamínicos H<sub>1</sub> de 1<sup>a</sup> geração, foram sintetizadas novas moléculas com atividade anti-histamina dotadas de afinidade exclusiva para o recetor H<sub>1</sub>, baixa capacidade de penetrar

a BHE e com um tempo de semivida plasmático bastante superior aos anti-histamínicos de 1ª geração. (39) Esta nova classe terapêutica, os anti-histamínicos H<sub>1</sub> de 2ª geração, são praticamente isentos de quaisquer efeitos resultantes da ligação a outros recetores causada pela elevada afinidade para o H<sub>1</sub>, assim como de potenciais efeitos adversos a nível central, como a sedação. (35) (40)

Os anti-histamínicos de 2ª geração constituem a primeira linha terapêutica no tratamento da rinite alérgica e urticária. (40) Os fármacos mais utilizados e mais estudados são: bilastina, cetirizina, levocetirizina, loratadina, desloratadina, ebastina e fexofenadina. (41)

Quando administrados *per os*, a concentração plasmática máxima (pico) ocorre, geralmente, 3 horas depois. Dada a sua elevada lipossolubilidade, estes fármacos vão ter uma facilidade acrescida em penetrar a membrana celular, e conseqüentemente, aumentar a biodisponibilidade. A ligação às proteínas plasmáticas varia de fármaco para fármaco, sendo que a fexofenadina se liga em cerca de 60%, enquanto que a cetirizina, levocetirizina e desloratadina, apresentam uma extensão de ligação às proteínas plasmáticas na ordem dos 95% ou superior. Isto resulta numa quantidade diminuída de fármaco na forma livre em circulação, o que origina um efeito anti-histamínico reduzido. (40)

Na sua maioria, os anti-histamínicos de 2ª geração são metabolizados pelas enzimas do citocromo P450 (CYP450), pelo que a administração concomitante de indutores destas enzimas pode diminuir o efeito anti-histamínico dos fármacos, como é o caso das benzodiazepinas. Pelo contrário, os macrólidos e antifúngicos, inibidores do CYP450, exercem o efeito contrário ao promoverem um aumento da concentração plasmática. (40)

## 2.2. Recetor H<sub>2</sub>

Relativamente ao recetor H<sub>2</sub>, este é codificado por um gene localizado no cromossoma 5q35.2, e encontra-se acoplado à proteína G $\alpha_s$ . (30) Uma vez ativado este recetor, ocorre uma estimulação da produção de AC que resulta num aumento da concentração de AMPc intracelular. Este aumento de AMPc estimula a produção da proteína cinase A (PKA) que, por sua vez, potencia a atividade da bomba H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase. (28) Contudo, este recetor não se liga somente à proteína G $\alpha_s$ . À semelhança do recetor

H<sub>1</sub>, estabelece também uma ligação à proteína G $\alpha_{q/11}$  que culmina na formação de IP<sub>3</sub>, desencadeando um aumento de iões Ca<sup>2+</sup> no espaço intracelular. (30) (31)

Este recetor é expresso em variados tecidos do nosso organismo, especialmente ao nível do estômago, cérebro e coração. O efeito mais proeminente da ligação da histamina com este recetor é a estimulação da secreção de ácido gástrico através da bomba de protões H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, localizada nas células parietais do estômago. (31)

### 2.2.1. Anti-histamínicos H<sub>2</sub>

Os anti-histamínicos H<sub>2</sub> inibem competitivamente a ligação da histamina ao respetivo recetor. O efeito principal desta inibição é a redução da secreção de ácido gástrico, ao diminuir o *output* de iões H<sup>+</sup>, e, conseqüentemente, a atividade da pepsina. (36)

Os principais e mais conhecidos fármacos desta classe terapêutica são a cimetidina, ranitidina, famotidina e nizatidina. As principais indicações terapêuticas incluem o tratamento e profilaxia de úlceras pépticas gástricas e duodenais, refluxo gastroesofágico, e ainda as patologias com gênese na hipersecreção de ácido gástrico, como a síndrome de Zollinger-Ellison. (36)

Estes são rapidamente absorvidos quando tomados via oral, com exceção da famotidina, para a qual a concentração plasmática máxima é atingida em aproximadamente 1 a 2 horas após a administração. Após o efeito de primeira passagem no fígado, a biodisponibilidade plasmática é reduzida para 50% no caso da cimetidina, ranitidina e famotidina, ao contrário da nizatidina que pode alcançar os 90%. De um modo geral, a eliminação é feita maioritariamente pelos rins. (36)

Em relação aos possíveis efeitos adversos desta classe terapêutica, a famotidina, ranitidina e nizatidina destacam-se pelo seu quadro de segurança quando comparados com a cimetidina. Os principais efeitos adversos desta última são manifestados com maior impacto no SNC, onde a letargia, tonturas e o cansaço constituem os sintomas *minor* que podem escalar a efeitos *major* como é o caso da confusão mental, delírio, alucinações e convulsões. Para além dos efeitos ao nível do SNC, a desregulação endócrina também é bastante comum. A ginecomastia, diminuição da libido, impotência, galactorreia e o aumento da concentração da prolactina são os principais efeitos adversos. (36)

As interações medicamentosas têm um papel de extrema importância, uma vez que a cimetidina aumenta a concentração plasmática de alguns anticoagulantes,

antidepressivos tricíclicos, benzodiazepinas, bloqueadores  $\beta$ -adrenérgicos e bloqueadores dos canais de  $\text{Ca}^{2+}$ . Estas interações devem-se ao facto da cimetidina competir com as enzimas hepáticas responsáveis pela metabolização dos fármacos mencionados. (36)

Durante algum tempo, os anti-histamínicos  $\text{H}_2$  eram considerados como primeira opção terapêutica nas patologias acima mencionadas. Contudo, atualmente, foram substituídos pelos inibidores da bomba de prótons, como o omeprazol. (31)

### 2.3. Recetor $\text{H}_3$

O recetor  $\text{H}_3$  humano encontra-se num gene alocado ao cromossoma 20q13.33 que origina um péptido com 445 aminoácidos. (42)

Aquando da caracterização genética deste recetor, denotou-se a presença de várias isoformas do recetor causadas por *splicing* alternativo. Estas diferentes isoformas do recetor  $\text{H}_3$  são responsáveis por uma variação no perfil farmacológico, na transdução do sinal e na sua atividade. (11) (30)

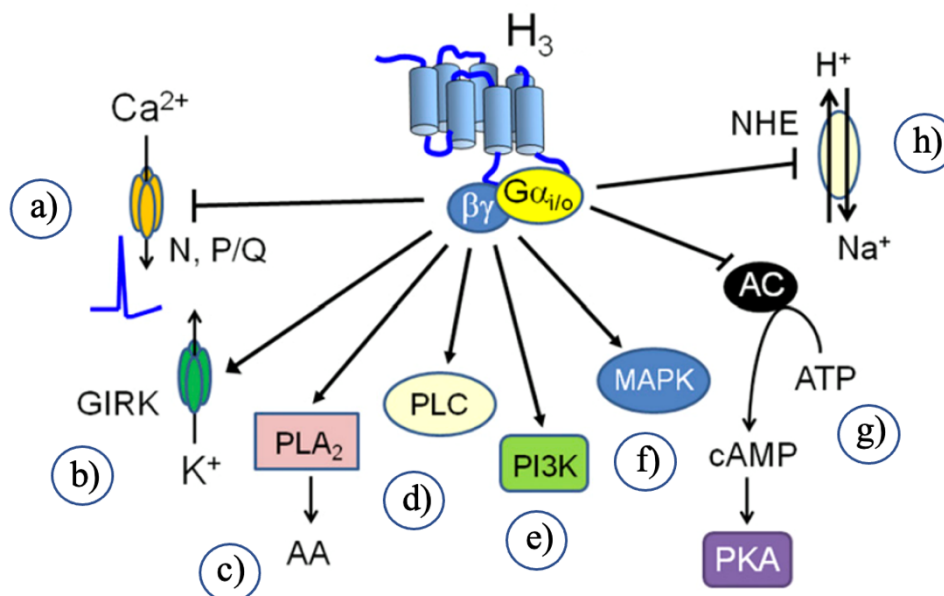
Até à data, cerca de 20 isoformas foram identificadas sendo que o *splicing* ocorre em 4 zonas distintas: na primeira região existe uma deleção do domínio N-terminal, na segunda região existe também uma deleção parcial na segunda proteína transmembranar e no primeiro *loop* extracelular. Já na terceira região, existe uma deleção dos domínios transmembranares 5, 6 e 7. O *splicing* alternativo na quarta região adiciona 8 resíduos de aminoácidos na cadeia C-terminal. (30)

Este recetor encontra-se predominantemente expresso ao nível do SNC onde a quantidade de neurónios histaminérgicos é muito elevada, como é o exemplo do córtex cerebral, hipocampo, núcleo accumbens, amígdalas cerebelosas, corpo estriado e no hipotálamo. (31) (43) No entanto, também é possível encontrar este tipo de recetor no trato gastrointestinal, nas vias respiratórias superiores e inferiores e no sistema cardiovascular. (31)

Dada a sua localização pré-sináptica, ele é considerado um auto-recetor pré-sináptico na medida em que inibe a síntese e, posteriormente, a libertação da histamina na fenda sináptica através de mecanismos de *feedback* negativo. Contudo, como mencionado já anteriormente, este recetor exhibe, ainda, características de um hetero-recetor pré-sináptico, uma vez que modula a libertação de outros neurotransmissores, tais como a dopamina, NA, 5-HT, glutamato e GABA. (44)

### 2.3.1. Vias de sinalização

À semelhança dos demais recetores histamínicos, o recetor H<sub>3</sub> encontra-se acoplado à proteína G, neste caso, à proteína G $\alpha_{i/o}$ . A ativação deste recetor desencadeia uma série de reações de sinalização descritas na Figura II.2. (43)



**Figura II.2** – Representação esquemática e simplificada das vias de sinalização mediadas pela ativação do recetor H<sub>3</sub>. AA – Ácido araquidónico; AC – Adenilciclase; ATP - Adenosina trifosfato; cAMP - Adenosina monofosfato cíclico; GIRK - Canais de potássio internos retificadores acoplados à proteína G; MAPK – Mitogénio ativador das proteínas cinase; NHE – Permutador de Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>; PI3K – Fosfatidilinositol-3-cinase; PKA - Proteína cinase A; PLA<sub>2</sub> – Fosfolipase A<sub>2</sub>; PLC – Fosfolipase C. Adaptado de (43).

#### a) Inibição dos canais de Ca<sup>2+</sup> dependentes de voltagem do tipo N, P e Q:

A ativação dos recetores H<sub>3</sub> vai levar a uma inibição dos canais de Ca<sup>2+</sup> resultando numa diminuição do Ca<sup>2+</sup> intracelular. Esta via de sinalização foi subsequentemente interligada como uma possível causa da modulação dos vários neurotransmissores a nível central. (43)

#### b) Ativação dos canais de potássio internos retificadores acoplados à proteína G (GIRK)

A ligação do ligando ao recetor H<sub>3</sub> vai fazer com que as subunidades β e γ formem o complexo G $\beta\gamma$ , e desta forma, ativem os canais de potássio internos retificadores acoplados à proteína G, com a libertação de iões K<sup>+</sup> para o espaço extracelular. A ativação

destes recetores localizados pré-sinácticamente, pode constituir um mecanismo adicional de modulação de neurotransmissores, uma vez que inibe a transmissão sinática. (43)

#### **c) Ativação da fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>)**

A ativação do recetor induz a ativação da fosfolipase A<sub>2</sub>, e conseqüentemente, a libertação de ácido araquidónico (AA), ácido docosahexaenóico e lisofosfolípidos. (43)

Vários estudos demonstraram que os compostos mencionados anteriormente levaram ao relaxamento dos bronquíolos em porquinhos-da-índia potenciado pela libertação de EDRF, uma vez que este é um metabolito do AA. (43)

#### **d) Ativação da fosfolipase C (PLC)**

Em vários estudos com hamsters chineses, a ativação do recetor H<sub>3</sub> resultou num aumento significativo de iões Ca<sup>2+</sup> a nível intracelular. Este processo resulta da ativação da PLC com o conseqüente incremento na concentração de IP<sub>3</sub>. Desta forma, há uma libertação de Ca<sup>2+</sup> armazenado no interior da célula. (43)

#### **e) Ativação da via do fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K)**

Em células transfetadas de neurónios cerebrocorticais de ratos, a ativação deste recetor estimula a fosforilação de Akt, ou proteína cinase B (PKB), e por conseqüência, fosforila e inibe a ação da enzima glicogénio sintase cinase 3β. (30) (43) Esta enzima desempenha um papel fundamental no controlo da neuroinflamação que está na origem de várias doenças neurodegenerativas do SNC, como a DA. (30) (45)

#### **f) Ativação da via do mitogénio ativador das proteínas cinase (MAPK)**

Além da sinalização mediada pela ativação do recetor H<sub>3</sub> pela proteína Gα<sub>i/o</sub>, o complexo de subunidades Gβγ é conhecido por ativar sinais de transdução específicos como a via do MAPK. (46) A sinalização do MAPK regula todo um conjunto de atividades celulares como a proliferação, diferenciação, sobrevivência e apoptose. Desta forma, esta via de sinalização está intimamente interligada com a patogénese de variadas doenças, nomeadamente o cancro e a DA. (47)

### **g) Inibição da adenilciclase (AC)**

A ativação do recetor  $H_3$  promove, também, uma inibição da AC. Assim, a conversão de adenosina trifosfato (ATP) em AMPc não é concluída, pelo que vai haver uma diminuição de AMPc intracelular. Desta forma, a PKA vai sofrer uma redução na sua atividade. (43) (46)

### **h) Inibição da atividade permutadora de $Na^+/H^+$**

A atividade permutadora de  $Na^+/H^+$  representa um dos principais mecanismos para restabelecer o pH intracelular através da troca de um ião  $H^+$  intracelular por um ião  $Na^+$  extracelular, evitando assim a acidificação durante uma condição de isquémia, por exemplo. Posto isto, um aumento da concentração de iões  $Na^+$  intracelular pode reverter a funcionalidade dos transportadores de NA dependentes de  $Na^+/Cl^-$ , promovendo um aumento da libertação de NA. (43)

A ativação do recetor leva a uma inibição da permuta entre os 2 iões de  $Na^+$  e  $H^+$  nas terminações nervosas simpáticas, inibindo, desta forma, a libertação de NA durante a isquémia do miocárdio. (43)

## **2.4. Recetor $H_4$**

Como já mencionado anteriormente, o recetor  $H_4$  foi o último recetor histamínico a ser descoberto e caracterizado, ao apresentar uma semelhança estrutural de 31% em comparação com o recetor  $H_3$ . (3)

O gene que codifica este recetor encontra-se no cromossoma humano 18q11.2 e codifica cerca de 390 aminoácidos. (30) Sabe-se que os indivíduos que apresentem mais do que uma cópia deste gene estão mais predispostos ao desenvolvimento de doenças autoimunes como lúpus eritematoso sistémico e artrite. (8) Pelo contrário, indivíduos que apresentem um número de cópias mais reduzido, estão associados a uma diminuição da proteinúria. (8)

Este recetor é principalmente expresso nas células do sistema imunológico, como por exemplo nos eosinófilos, mastócitos, monócitos, basófilos, neutrófilos, células dendríticas e linfócitos T. Contudo, também pode ser encontrado no trato gastrointestinal e, ainda, no SNC. (8) (31)



Encontram-se acoplados à proteína  $G\alpha_{i/o}$ , à semelhança do recetor  $H_3$ , e a sua ativação resulta numa inibição da produção de AMPc, que por sua vez é responsável por modular a produção de PKA e toda a posterior sinalização envolvida na transcrição de vários genes. Após estimulação deste recetor ocorre igualmente a ativação da PLC capaz de induzir um aumento da mobilização do  $Ca^{2+}$  intracelular potencialmente interligado com a quimiotaxia de mastócitos, eosinófilos e monócitos para os locais de inflamação. (8) (31)

Vários estudos indicam que a ativação do recetor  $H_4$  modula a libertação e modificação de inúmeras interleucinas, como a IL-4, IL-10, IL-12, e IL-16, assim como outras citocinas nomeadamente o interferão e o fator de necrose tumoral, importantes no processo de quimiotaxia. (48)

A presença deste recetor na superfície da maioria das células imunitárias e os efeitos quimiotáxicos demonstram a pertinência do recetor nas respostas imunitárias e inflamatórias. (31) Desta forma, considera-se que este recetor constitui um alvo promissor e inovador no tratamento de diversas patologias de etiologia inflamatória, como a asma, alergia, e patologias cutâneas. (31)

#### **2.4.1. Anti-histamínicos $H_4$**

Numa fase inicial, era necessário compreender o funcionamento deste novo recetor. Como seria de esperar dada a elevada homologia entre os recetores  $H_3$  e  $H_4$ , muitos dos compostos anteriormente descritos como ligandos do recetor  $H_3$ , tinham também afinidade para o recetor  $H_4$ . Consequentemente, os compostos (R)- $\alpha$ -metilhistamina, agonista  $H_3$ , e a tioperamida, antagonista  $H_3$ , serviram de exemplo para estudar o funcionamento e a caracterização deste recetor. Mais tarde, denotou-se que estes compostos não eram os ideais para essas finalidades, uma vez que a afinidade era baixa para o recetor  $H_4$ . (49)

De modo a contornar a situação, foi sintetizado um novo composto, JNJ 7777120, um antagonista potente e bastante seletivo para o recetor  $H_4$ . A sua administração em modelos animais permitiu a compreensão do papel fisiológico do recetor, bem como a sua potencialidade anti-inflamatória. Um análogo, JNJ 10191584, bem como outros compostos sintetizados posteriormente, mostraram uma atividade benéfica no controlo da asma, prurido e dermatites. (49)

### III. ANTI-HISTAMÍNICOS H<sub>3</sub>

A ideia de sintetizar novos compostos advém com frequência das premissas “um fármaco – um alvo” ou “fármaco de alvo único”, que, atualmente, não atenta suficientemente às necessidades de tratamento de variadas doenças causadas por processos fisiopatológicos de diferentes origens e mecânicas. Uma vez que as patologias do SNC são definidas por inúmeras desregulações fisiológicas de uma rede complexa de vias de sinalização, é urgente a síntese de compostos que atuem em diferentes alvos biológicos. (50)

É clara a evidência de que os ligandos do recetor histamínico H<sub>3</sub> podem contribuir positivamente para a correção de disfunções subjacentes a várias patologias nomeadamente aquelas em que há um comprometimento cognitivo, e sabe-se também que podem interferir nos processos de memória. Os antagonistas H<sub>3</sub> potenciam a libertação, não só de histamina, mas também de outros neurotransmissores que desempenham um papel fundamental nos processos cognitivos. (51) Em vários estudos utilizando ratinhos, demonstrou-se que alguns compostos anti-histamínicos H<sub>3</sub> melhoraram o reconhecimento de objetos e a taxa de aprendizagem. Este incremento faz com que estes compostos possam ter um papel importante a desempenhar no tratamento da DA. (51) (52) Os efeitos potenciadores da função cognitiva utilizando modelos animais são, também, indicativos de uma nova abordagem terapêutica no tratamento da esquizofrenia e PHDA. (51)

A histamina é considerada também o neurotransmissor de excelência no que concerne ao ciclo circadiano, uma vez que exerce um papel fundamental nos processos de atenção e excitação necessários ao desempenho cognitivo. Em indivíduos que sofram de narcolepsia, caracterizada por sono excessivo mesmo durante o dia, os anti-histamínicos H<sub>3</sub> ao bloquear o efeito da histamina, vão permitir que o indivíduo se mantenha acordado/vigilante. Vários estudos apontam também que concentrações elevadas de histamina a nível do SNC com o bloqueio dos recetores H<sub>3</sub>, resultam numa perda de apetite, com a conseqüente redução de peso em ratinhos, revelando deste modo interesse no tratamento da obesidade. (19)

### 3.1. Classificação farmacológica

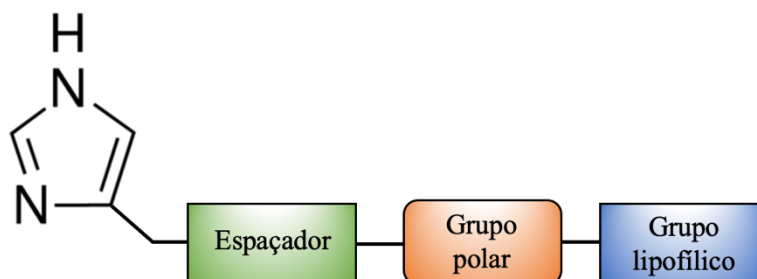
A farmacologia inerente ao recetor H<sub>3</sub> é bastante complexa, e os seus ligandos podem ser agonistas totais, agonistas parciais, antagonistas, ou ainda, agonistas inversos. (43) Estes últimos, muitas vezes confundidos com os antagonistas, são moléculas capazes de se ligar ao alvo terapêutico como um agonista total ou parcial, contudo, o seu efeito farmacológico é contrário. Ao passo que os antagonistas se ligam aos recetores, impedindo a ligação dos agonistas e exibindo uma atividade intrínseca nula. Deste modo, esta ligação não leva à ativação subsequente do recetor. (53)

A histamina (Fig I.1) é uma molécula não quirál hidrofílica, constituída por um anel imidazol e uma cadeia lateral etilamina. Existem no recetor dois locais fundamentais para que seja estabelecida a ligação da histamina, e, conseqüentemente, dos anti-histamínicos H<sub>3</sub>: o primeiro é o aspartato 114 (Asp114) carregado negativamente no domínio transmembranar 3 que interage com o grupo amina protonada da histamina, e o outro é o glutamato 206 (Glu206) no domínio transmembranar 5, que forma uma ponte de hidrogénio com um dos azotos do anel imidazol. (43)

Em relação à sua estrutura, os anti-histamínicos H<sub>3</sub> podem dividir-se em 2 grupos: anti-histamínicos H<sub>3</sub> imidazólicos, e anti-histamínicos H<sub>3</sub> não-imidazólicos.

#### 3.1.1. Anti-histamínicos H<sub>3</sub> imidazólicos

Os primeiros ligandos sintetizados foram baseados na estrutura base da histamina, com ação agonista para o recetor. O anel imidazol foi preservado, ao passo que apenas a cadeia lateral era variável. Desta forma, surgiu por volta de 2005, um modelo do farmacóforo que serviu de base para os novos ligandos imidazólicos. (Figura III.1) (43)



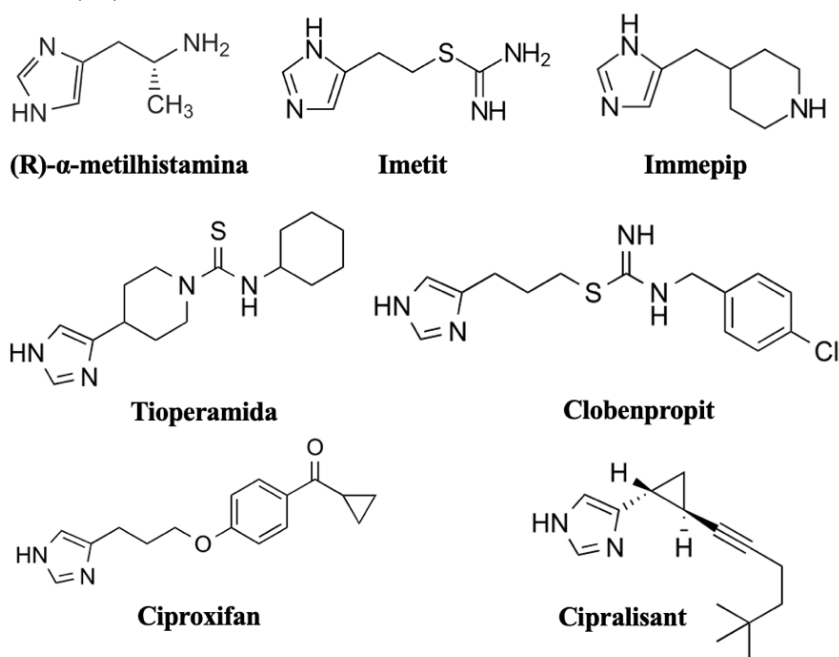
**Figura III.1** – Estrutura base dos anti-histamínicos H<sub>3</sub> imidazólicos. Observa-se o anel imidazólico à esquerda, ligado a um grupo polar através de um espaçador, ao qual está ligado um grupo lipofílico. Adaptado de (54)

Como supramencionado, os primeiros ligandos com afinidade para estes recetores foram, efetivamente, um agonista, a (R)- $\alpha$ -metilhistamina, e um antagonista, a tioperamida. (43) (Figura III.2)

Algumas alterações no modelo farmacóforo levaram à síntese de outras moléculas como o imetit, um agonista bastante seletivo e potente, assim como o immepip. (Figura III.2) O grande problema destes compostos surgiu com a caracterização do recetor H<sub>4</sub> e a sua homologia com o recetor H<sub>3</sub>. (43)

Quanto aos antagonistas do recetor destacam-se a tioperamida, o clobenpropit, o ciproxifan, e o cipralisant. (Figura III.2) A tioperamida, assim como o clobenpropit, atuam como antagonistas H<sub>3</sub> altamente potentes. Além disso, o primeiro mostrou que o recetor regula negativamente a ingestão de alimentos em roedores, sugerindo, portanto, o seu potencial terapêutico no tratamento da obesidade e diabetes *mellitus*. (55). Por outro lado, denotou-se uma resposta positiva na *performance* cognitiva caracterizada por um incremento na atenção com o ciproxifan, contudo, curiosamente, o primeiro ligando a entrar em ensaios clínicos foi o cipralisant, tendo alcançado a fase II para o tratamento da PHDA. (55)

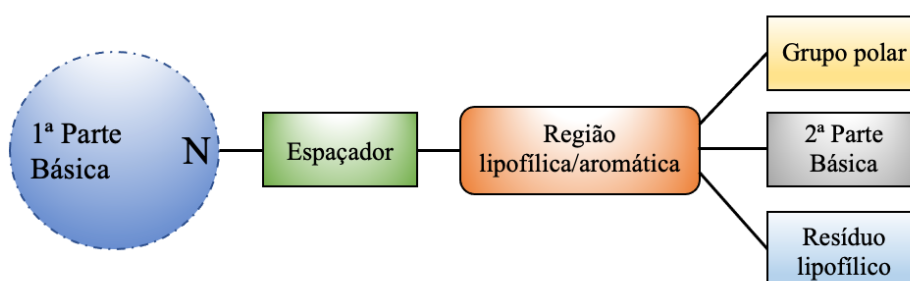
A inibição do citocromo P450, a fraca penetração cerebral, e a falta de seletividade para o recetor H<sub>3</sub>, foram algumas das lacunas que fizeram com que estes ligandos iniciais fossem postos de parte e não seguiram para ensaios clínicos. No entanto, a substituição do anel imidazol por outros grupos heterocíclicos foi um marco importante para a síntese de novos ligandos. (55)



**Figura III.2** – Estrutura química dos anti-histamínicos H<sub>3</sub> imidazólicos. Adaptado de (43) e (55)

### 3.1.2. Anti-histamínicos H<sub>3</sub> não-imidazólicos

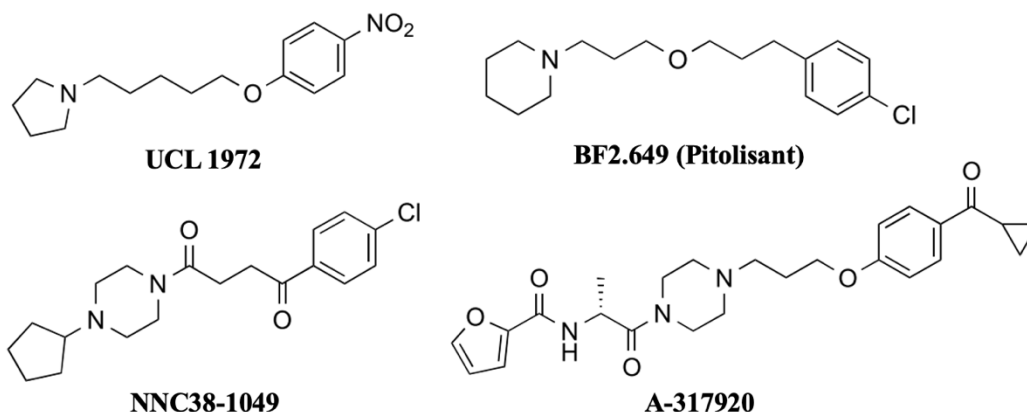
Com a finalidade de colmatar todas as lacunas de natureza farmacocinética e farmacodinâmica inerentes aos anti-histamínicos H<sub>3</sub> imidazólicos, foram sintetizados os anti-histamínicos H<sub>3</sub> não-imidazólicos. Uma das diferenças aquando da síntese de tais compostos foi a substituição do anel imidazol, ou por um anel pirrolidina, um anel piperidina, ou ainda um anel piperazina, na parte “ocidental” da molécula, comportando-se deste modo como uma base que estabelece ligação através de um espaçador, a uma zona central denominada de região lipofílica/aromática. Na parte “oriental” da molécula, podem ligar-se uma de 3 subunidades: um grupo polar, uma base, ou ainda um resíduo lipofílico. (43) (55) (Figura III.3)



**Figura III.3** - Estrutura base dos anti-histamínicos H<sub>3</sub> não-imidazólicos. Observa-se na parte “ocidental” à esquerda, a primeira parte básica, geralmente um anel pirrolidina, um anel piperidina, ou ainda um anel piperazina. Este encontra-se ligado a uma região lipofílica/aromática através de um espaçador, o qual estabelece ligação com uma de três subunidades: um grupo polar, uma segunda parte básica, ou ainda um resíduo lipofílico. Adaptado de (11) e (56).

A variabilidade é obtida por meio de modificações quer na parte “ocidental”, quer na parte “oriental” da molécula. No que concerne às modificações introduzidas na parte “ocidental”, estas resultam em perfis farmacocinéticos e farmacodinâmicos distintos. Já no caso da parte “oriental”, o tamanho da molécula dependerá do grupo substituinte, causando, ou não, algumas limitações quanto ao seu futuro nos ensaios clínicos. (57)

Em 1998, foram sintetizados os primeiros antagonistas H<sub>3</sub> não-imidazólicos, denominados de UCL 1972, BF2.649 (atualmente conhecido por pitolisant), NNC38-1049, e, por último, A-317920. (55) (Figura III.4)



**Figura III.4** – Estrutura química dos primeiros anti-histamínicos H<sub>3</sub> não-imidazólicos. Adaptado de (55)

Ao estudar a relação estrutura-atividade dos compostos mencionados, mais conhecimento foi consolidado na área. Variados compostos de potência idêntica ou inclusive superior aos demais, foram sintetizados e desenvolvidos (Tabela III.1). (43)

**Tabela III.1** - Tabela representativa dos compostos anti-histamínicos estudados. (19)

Indicação terapêutica	Composto	Tipo de interação com o recetor	Ensaio
<i>Narcolepsia</i>	Pitolisant (Wakix®)	Antagonista/ Agonista inverso	Aprovado
	ADP-916	Antagonista	Fase 1
	JNJ-17216498	Antagonista	Fase 2
<i>Doença de Alzheimer</i>	ABT-288	Antagonista	Fase 2
	AZD5213	Antagonista	Fase 1
	GSK-189254	Antagonista	Pré-clínico
	GSK-239512	Antagonista	Fase 1
	MK-0249	Antagonista	Fase 2
	MK-3134	Agonista inverso	Fase 1
	S 38093	Antagonista/ Agonista inverso	Pré-clínico
SAR-110894	Antagonista	Pré-clínico	

<i>Esquizofrenia</i>	ABT-288	Antagonista	Fase 2
	GSK-239512	Antagonista	Fase 2
	MK-0249	Antagonista	Fase 2
	PF-03654746	Antagonista	Pré-clínico
<i>Perturbação de hiperatividade e défice de atenção</i>	JNJ-31001074, ou Bavisant	Antagonista	Fase 2
	MK-0249	Antagonista	Fase 2
<i>Obesidade</i>	KSK-19	Antagonista	Pré-clínico
	Pitolisant	Antagonista/ Agonista inverso	Pré-clínico
	Betahistina	Antagonista	Pré-clínico

### 3.2. Anti-histamínicos H<sub>3</sub> no tratamento da Narcolepsia

#### 3.2.1. Narcolepsia

A narcolepsia é uma patologia crónica do foro psiquiátrico e altamente incapacitante. É caracterizada por uma sonolência diurna excessiva (SDE), cataplexia (uma perda involuntária do tónus muscular desencadeada por fatores emocionais), e alucinações. (58) (59) Existem dois tipos de narcolepsia: tipo 1 e tipo 2.

A narcolepsia do tipo 1 afeta cerca de 0,05% da população europeia. (59) Está associada à cataplexia e resulta da destruição seletiva dos neurónios da orexina (ou hipocretina), possivelmente por meio de um mecanismo autoimune. (59) A orexina A e B são pequenos neuropéptidos que excitam os neurónios-alvo através dos seus recetores da orexina tipo 1 e tipo 2, respetivamente. Uma desregulação deste sistema de neuropéptidos leva a uma perda do funcionamento límbico e do tronco cerebral. (60) A produção diminuída de orexina vai então reduzir a sinalização excitatória para os neurónios envolvidos na síntese dos neurotransmissores promotores da vigília, como a NA, dopamina, 5-HT e histamina. (58) Em contrapartida, a narcolepsia tipo 2 tem uma etiologia desconhecida, com os neurónios da orexina intactos e a cataplexia não é visível. (59)

O tratamento farmacológico para esta patologia visa melhorar a vigília, com uma redução das crises de cataplexia e as alucinações associadas ao sono. Os fármacos modafinil e armodafinil promovem a transmissão do sinal dopaminérgico, fazendo com que estes sejam o tratamento de primeira linha para a SDE. (59) O oxibato de sódio está aprovado pela EMA (do inglês, *European Medicines Agency*) e pela FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*) como tratamento de primeira linha para a cataplexia. Alguns fármacos antidepressivos como a clomipramina e imipramina em doses baixas, bem como a fluoxetina, a venlafaxina e outros inibidores seletivos da recaptção da serotonina e noradrenalina, podem contribuir para a melhoria a cataplexia, contudo, não são aprovados (na maioria dos países) para esta indicação. (58) (60)

No entanto, nem todos os doentes toleram a medicação de igual forma. A presença de efeitos adversos com a medicação, as interações farmacológicas com medicamentos para o tratamento de outras comorbilidades e a doença refratária, fazem com que seja necessário desenvolver novas opções terapêuticas para este distúrbio. (58)

### **3.2.2. Tratamento da Narcolepsia com anti-histamínicos H<sub>3</sub>**

O fármaco pitolisant (Wakix<sup>®</sup>), antigamente conhecido como BF2.649, é o primeiro anti-histamínico H<sub>3</sub> com aprovação pela EMA e FDA, para o tratamento da narcolepsia com ou sem cataplexia. (61) É um antagonista seletivo do recetor H<sub>3</sub>, em que a sua ação é mediada a nível pré-sináptico por meio da ativação dos neurónios histaminérgicos centrais, envolvidos numa grande variedade de funções, como a vigília, a atenção e a memória. Além de promover a libertação de histamina, através dos auto-recetores, este fármaco modula também a libertação de vários neurotransmissores como a dopamina, NA e ACh, por meio dos hetero-recetores (62)

Liga-se extensamente às proteínas plasmáticas (cerca de 90%) e é distribuído de maneira bastante uniforme entre o plasma e os glóbulos vermelhos. É eliminado principalmente na urina (cerca de 63% da dose administrada), onde o seu tempo de meia-vida plasmática é entre 10–12h. À data, sabe-se também a partir de estudos *in vitro* que o pitolisant é um indutor do CYP3A4, CYP2B6 e CYP1A2 e um inibidor do CYP2D6 e do transportador de catiões orgânicos 1, ou OCT1. (62)

Numa fase inicial da sua descoberta, este fármaco demonstrou à partida uma grande seletividade para o recetor H<sub>3</sub>, ao contrário de outras moléculas. Em modelos animais destacou-se desde logo pela sua intensa atividade central nos neurónios



histaminérgicos e adrenérgicos, aumentando a vigília e diminuindo os episódios de sono REM (do inglês, *rapid eye movement*), muito comum na narcolepsia. (61) Muitos foram os ensaios clínicos realizados utilizando o pitolisant, mas aqueles que levaram à sua aprovação foram: Harmony I, Harmony III, e Harmony-CTP.

O ensaio clínico Harmony I foi um estudo de fase III, duplo-cego e randomizado que comparou o pitolisant com o placebo ou modafinil com o intuito de avaliar a eficácia do pitolisant no tratamento de doentes com narcolepsia. Incluiu 94 doentes (pitolisant n=31, placebo n=30, e modafinil n=33), todos com diagnóstico confirmado, com períodos de REM de início de sono  $\geq 2$  min e uma pontuação na escala de sonolência de Epworth  $\geq 14$  (ESS, do inglês, *Epworth sleepiness scale*). (61) Esta escala é utilizada para medir a propensão ao sono em oito situações da vida real em que é atribuído um score entre 0 e 3 em cada situação. Pode variar entre 0 e 24, sendo que uma pontuação  $\geq 12$  indica-nos que a SDE compromete a vida do doente. (63) O ensaio durou 8 semanas, em que nas primeiras 3 semanas houve uma titulação de doses de pitolisant e modafinil, seguido de um período de 5 semanas de dose padronizada. No final da 8ª semana, todos os grupos, com exceção do grupo placebo, demonstraram melhorias significativas comparativamente ao início, evidenciado pela redução da pontuação atribuída na ESS. O pitolisant foi superior ao placebo (com uma diminuição média da ESS de 5.8), não tendo demonstrado inferioridade em comparação com o modafinil. Houve uma redução significativa da incidência de ataques de cataplexia relatados com o pitolisant em comparação com o placebo, embora semelhante ao modafinil. (61)

A segurança e a eficácia a longo prazo do pitolisant para o tratamento de narcolepsia foi avaliada no ensaio clínico Harmony III. (64) Os 102 participantes deste estudo eram doentes diagnosticados com narcolepsia com evidência ou não de cataplexia e SDE persistente (ESS  $\geq 12$ ). Este estudo foi conduzido por 1 ano, e, ao contrário do Harmony I, os participantes do Harmony III podiam tomar concomitantemente estimulantes do SNC e medicação anticataléptica ao longo do ensaio. (61) O estudo confirmou a segurança e eficácia do pitolisant na SDE, cataplexia, alucinações e paralisia do sono, sendo observada uma diminuição média de 4,6 na escala ESS desde o início até o final do estudo. Os melhores resultados obtidos ocorreram nos doentes com pitolisant (nunca submetidos a terapêutica experimental com o fármaco), com uma alteração média da pontuação de ESS de 6,5. Estes resultados são consistentes com os resultados alcançados no Harmony I, mas mostraram segurança a longo prazo e efeito sustentado após 1 ano. (61)

O ensaio Harmony-CTP teve como principal objetivo avaliar a segurança e eficácia do pitolisant na cataplexia em doentes diagnosticados com narcolepsia. Foi um estudo duplo-cego randomizado de fase III com duração de 7 semanas, onde foram recrutados 106 doentes (pitolisant n = 54 e placebo n = 52). (61) (65) Os requisitos essenciais para inclusão dos doentes no estudo compreendiam o diagnóstico confirmado de narcolepsia com cataplexia, uma pontuação de ESS  $\geq 12$  no início do estudo, bem como a ocorrência de três ou mais episódios de cataplexia por semana. À semelhança do Harmony III, o uso continuado de anticatalépticos com oxibato de sódio ou outros antidepressivos foi permitido. No final, o resultado principal deste estudo foi observado ao nível do número médio de crises de cataplexia por semana entre o início do ensaio e o período de dosagem estável de 4 semanas, tendo sido registada uma redução de 75% de crises no grupo administrado com pitolisant. (61) (65)

A aprovação do pitolisant pelas entidades reguladoras, destaca o sucesso terapêutico da modulação do recetor H<sub>3</sub> no tratamento da narcolepsia. Neste sentido, outros compostos com atividade anti-histamina foram sujeitos a ensaios clínicos com a mesma finalidade.

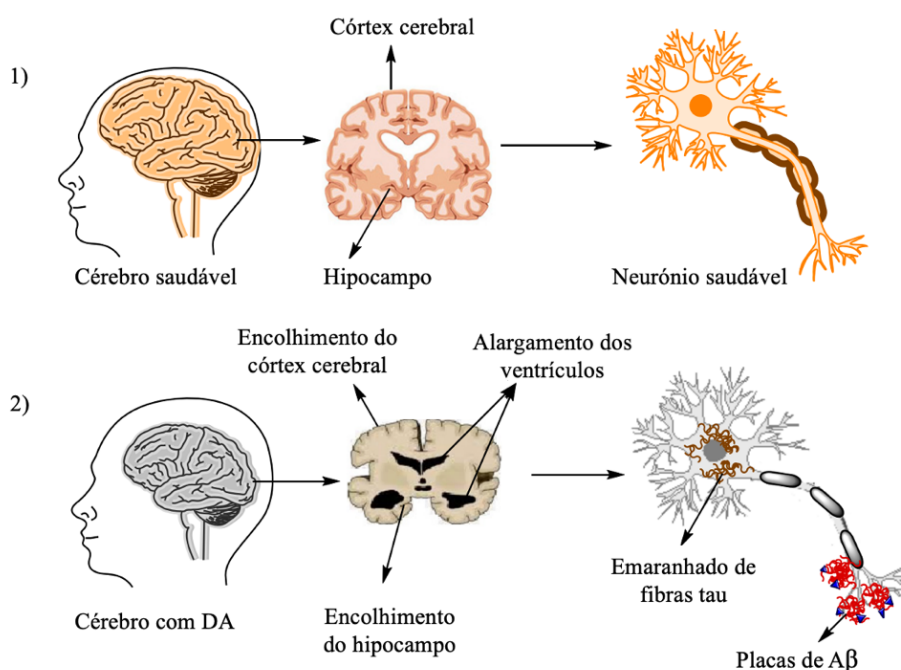
O composto ADP-916, um antagonista H<sub>3</sub>, apresenta um bom perfil farmacocinético e alta seletividade para o recetor. Quando administrado por via oral, aumentou a vigília em modelos animais. Atualmente, existe um ensaio clínico duplo-cego randomizado de fase I em indivíduos saudáveis, na qual está a ser administrado este composto com o objetivo de se verificar a sua potencialidade no tratamento da narcolepsia. (19)

Sabe-se que o composto JNJ-17216498, desenvolvido pela empresa Johnson & Johnson, concluiu um estudo clínico de fase II, com o objetivo de avaliar a sua eficácia como uma dose única diária de 10 mg ou 50 mg, quando comparados com o placebo e modafinil. No entanto, os resultados clínicos ainda não foram publicados na comunidade científica. (19) (66)

### 3.3. Anti-histamínicos H<sub>3</sub> no tratamento da Doença de Alzheimer

#### 3.3.1. Doença de Alzheimer

A DA é uma doença neurodegenerativa constituindo uma das principais causas de demência, que se caracteriza por um declínio no pensamento e independência nas atividades pessoais diárias. Nas áreas afetadas do cérebro, é muito comum a presença histopatológica de placas como resultado do acúmulo de péptido beta-amiloide (A $\beta$ ), bem como de emaranhados neurofibrilares intracelulares. (67) (68) (Figura. III.5)



**Figura III.5** – Representação esquemática das diferenças entre um cérebro saudável, (1), em comparação com um cérebro com doença de Alzheimer (DA) (2). A $\beta$  – Péptido beta-amiloide. Adaptado de (67)

De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde, existem mais de 30 milhões de pessoas diagnosticadas com DA e espera-se que esse número deva duplicar nos próximos anos. (69) Apesar de ainda não ser conhecida uma causa concreta para o aparecimento desta doença, existem certos fatores de risco já identificados, como a idade, o baixo nível educacional e ocupacional, traumatismo craniano prévio, distúrbios do sono, e hipertensão. Para além destes, doenças do foro cardiovascular e cerebrovascular como consequência da prática de estilos de vida desadequados como o tabagismo, ingestão de álcool e dietas ricas em gorduras saturadas, também constituem alguns dos fatores de risco preponderantes. (70)

Atualmente, as duas hipóteses que melhor tentam explicar a etiologia da DA, são a hipótese colinérgica e a hipótese amiloide. A ACh é um neurotransmissor sintetizado no citoplasma dos neurónios a partir da colina e da acetil-coenzima A pela enzima colina acetiltransferase. Em meados da década de 1970, descobriu-se que existia uma degeneração irreversível dos neurónios colinérgicos com uma perda da função cognitiva e memória. Devido ao papel de enorme importância da ACh em vários processos fisiológicos, como a memória, atenção, informações sensoriais, aprendizagem e outras funções cognitivas, foi estabelecida uma correlação fisiopatológica entre o fenómeno de neurodegeneração colinérgica e a doença. Em contraste, a hipótese amiloide sugere que existe um depósito de A $\beta$ , causada pela clivagem de uma proteína transmembranar precursora amiloide (APP) por ação das enzimas proteolíticas  $\beta$ -secretase e  $\gamma$ -secretase. Essas enzimas clivam a APP em vários fragmentos de aminoácidos, entre eles o A $\beta$ 40 envolvido na plasticidade neural e o A $\beta$ 42, altamente neurotóxico e propenso a agregação. O aumento da proporção de A $\beta$ 42/A $\beta$ 40 induz a formação de fibrilha amiloide A $\beta$ , resultando em neurotoxicidade e, conseqüentemente, morte celular. (70)

A terapêutica farmacológica existente não permite a cura total, no entanto, impede uma progressão mais rápida da doença. (68) A acetilcolinesterase (AChE) é a enzima responsável pela hidrólise da acetilcolina em colina e ácido acético. (67) Posto isto, os inibidores da AChE, utilizando como base a hipótese colinérgica mencionada acima, vão aumentar a concentração do neurotransmissor na fenda sinática, e desta forma, favorecer a neurotransmissão colinérgica. Os fármacos donepezilo, galantamina e rivastigmina têm eficácia comprovada em doentes com DA leve a moderada. (71) O glutamato, porém, é um neurotransmissor excitatório que se liga ao recetor N-metil-D-aspartato (NMDA), envolvido na aprendizagem e memória. Este neurotransmissor ao ligar excessivamente ao recetor, vai causar um influxo de iões Ca<sup>2+</sup> potencialmente danosos para os neurónios. (70) A memantina, é um antagonista não competitivo do recetor NMDA, reduzindo, assim, o efeito neurotóxico do glutamato. (71)

A ineficácia da terapêutica atual em modificar a progressão da doença, continua a ser um grande entrave. Neste sentido, existe uma imperiosa necessidade de mudar o paradigma atual da terapêutica farmacológica. (68) (71)

### 3.3.2. Tratamento da Doença de Alzheimer com anti-histamínicos H<sub>3</sub>

São vários os anti-histamínicos H<sub>3</sub> que avançaram recentemente para ensaios clínicos com o objetivo de serem opções válidas no tratamento da DA. Entre eles inserem-se os compostos ABT-288, AZD-5213, GSK-189254, GSK-239512, MK-0249, MK-3134, S 38093, e o SAR-110894.

O ABT-288 é um antagonista do recetor H<sub>3</sub> sintetizado pela Abbott. Utilizando ratinhos, comprovou-se que induz a libertação de histamina, dopamina e também de ACh no córtex pré-frontal. (72) Apresenta um bom perfil farmacocinético, segurança e boa biodisponibilidade oral. Contudo, foi realizado um ensaio clínico de fase 2 randomizado duplo-cego durante 12 semanas com o objetivo de determinar a eficácia e segurança do composto em adultos diagnosticados com DA em comparação com o placebo e donepezilo, onde se concluiu que o ABT-288 não demonstrou efeitos benéficos na cognição em indivíduos com DA leve a moderada, mas na sua generalidade, foi bem tolerado. (73)

Já o composto AZD-5213 é um antagonista H<sub>3</sub>. Em 3 ensaios clínicos de fase 1 duplo-cego, randomizados e controlados por placebo, foram avaliadas com sucesso, a segurança, tolerabilidade e a farmacocinética do composto após doses orais únicas e/ou múltiplas em voluntários saudáveis. (19)

A empresa GlaxoSmithKline sintetizou 2 compostos com atividade anti-histamina: GSK-189254 e GSK-239512. O primeiro é um antagonista H<sub>3</sub> com afinidade e seletividade para o recetor. Em múltiplos estudos, o GSK-189254 incrementou os níveis de vários neurotransmissores como a ACh, NA e dopamina a nível central pelo seu efeito antagonista nos hetero-recetores histaminérgicos. (74) Já o seu análogo, GSK-239512, mostrou ter uma alta afinidade para o recetor quer *in vitro*, quer *in vivo* em modelos experimentais utilizando ratos e humanos. (75) Num estudo de fase 1 randomizado, e controlado por placebo, a eficácia e segurança do composto foram avaliadas usando uma titulação de doses em doentes com DA leve a moderada. Os resultados foram satisfatórios, na medida em que exibiu um efeito cognitivo aceitável, assim como uma boa tolerabilidade. (76)

O ligando MK-0249, com atividade antagonista, demonstrou nos ensaios de ligação, uma boa afinidade para o recetor H<sub>3</sub>. Além disso, um estudo *in vivo* mostrou que os níveis de histamina a nível central encontravam-se aumentados após a administração do composto em ratos. (19) Recentemente, foi levado a cabo um estudo de fase 2 com o

objetivo de avaliar a segurança e eficácia do MK-0249 com indicação terapêutica para a DA, no entanto, não foram observados quaisquer resultados clínicos positivos. (77) O outro composto sintetizado pela Merck, MK-3134, um agonista inverso, exibe alta afinidade de ligação e seletividade para o recetor. Além disso, este composto mostrou bom perfil farmacocinético em modelos de ratos. Num estudo, foi examinada a eficácia do MK-3134 em concomitância com donepezilo em doentes com a função cognitiva comprometida pela administração da escopolamina, causada por uma disfunção colinérgica e um aumento da deposição de A $\beta$ . Esta associação comprovou que é possível reverter os efeitos da escopolamina em maior extensão, quando comparados com a administração de cada um dos compostos em monoterapia. (78) (79)

Outro composto com atividade antagonista e agonista inverso, o S 38093, mostrou ter um bom perfil farmacocinético em modelos animais, assim como alta seletividade para o recetor H<sub>3</sub>, em estudos pré-clínicos *in vitro*. Num estudo recente, Panayi *et al.* comprovou que este composto melhorou significativamente a cognição, como consequência do aumento da libertação de histamina, assim como de ACh, no córtex pré-frontal de ratos. (80)

Em 2012, a empresa Sanofi-Aventis sintetizou o antagonista SAR-110894. A sua eficácia foi verificada através de vários estudos em modelos animais com comprometimento cognitivo relacionados com a DA. (81) Esse composto mostrou a sua eficácia, especialmente em ratinhos com taupatias. (82) A proteína tau tem como principal objetivo a estabilização do citoesqueleto dos microtúbulos celulares, encontrando-se, por isso, em grandes quantidades nos neurónios. Quando existe uma patologia de base causada por uma desregulação nestas proteínas, as taupatias, ocorre uma hiperfosforilação das proteínas resultando num emaranhado neurofibrilar que desestabilizam o citoesqueleto neuronal. (Figura III.5) (82) Assim sendo, o composto SAR-110894 previne défices cognitivos e o aparecimento de taupatias, comumente associadas à DA. (82)

### **3.4. Anti-histamínicos H<sub>3</sub> no tratamento da Esquizofrenia**

#### **3.4.1. Esquizofrenia**

A esquizofrenia é uma doença psiquiátrica caracterizada por surtos psicóticos, alucinações, delírio, comprometimento cognitivo, assim como, alterações de humor e

sintomas ansiosos. (83) (84) A etiologia desta patologia é multifatorial, pelo que se pensa que os fatores biológicos, onde o excesso de síntese pré-sináptica de dopamina possa ter enorme relevância, os fatores psicossociais, e os fatores ambientais, como a urbanidade, migração, o consumo de canábis e substâncias psicoestimulantes, possam estar na origem do desenvolvimento da esquizofrenia. (85)

As primeiras manifestações clínicas geralmente aparecem durante a adolescência em doentes do sexo masculino entre os 15 e os 25 anos, contudo, no sexo feminino o paradigma é diferente. Existe um primeiro pico entre os 25 e os 30 anos, e um segundo pico anos mais tarde. (86) Já a sintomatologia, esta pode ser dividida em sintomas positivos e negativos. Os sintomas positivos caracterizam-se pelas alucinações, especialmente auditivas mas também visuais, pelos delírios, com o desenvolvimento de uma crença individual falsa, assim como ideação persecutória, e por fim, pela desorganização e lentificação no pensamento e no discurso. Os sintomas negativos mais comuns nesta patologia são a avolição, ou seja, falta de vontade generalizada, e uma expressão emocional diminuída. No entanto, existem outros sintomas negativos com enorme relevância como a anedonia e alogia que invariavelmente se manifestam num isolamento social. (83)

A terapêutica farmacológica utilizada como primeira linha são os antipsicóticos. Estes podem ser divididos em 2 subclasses: os antipsicóticos de 1ª geração e antipsicóticos de 2ª geração. Ambas as subclasses atuam no antagonismo ou agonismo parcial dos recetores da dopamina, nomeadamente os recetores do tipo D<sub>2</sub>. Os antipsicóticos de 1ª geração bloqueiam, exclusivamente os recetores D<sub>2</sub>. Alguns exemplos de antipsicóticos de 1ª geração são a clorpromazina, haloperidol, flupentixol e a sulpirida. Os principais efeitos adversos desta subclasse terapêutica manifestam-se, sobretudo, pelo aparecimento de sintomas extrapiramidais, como é o exemplo da acatísia (impossibilidade de estar parado), distonia aguda (contrações involuntárias), parkinsonismo, e discinésia tardia (movimentos involuntários, repetitivos e excessivos). A hiperprolactinémia é, similarmente, bastante recorrente. (86)

Em contrapartida, os antipsicóticos de 2ª geração, para além de bloquearem os recetores D<sub>2</sub> da dopamina, bloqueiam também os recetores serotoninérgicos e, dependendo do fármaco, podem ainda bloquear outro tipo de recetores como os muscarínicos,  $\alpha$ 1-adrenérgicos e histamínicos H<sub>1</sub>. (86) Os efeitos secundários dos fármacos antipsicóticos de 2ª geração, como o aripiprazol, clozapina, olanzapina, quetiapina e a risperidona, manifestam-se pelo bloqueio dos recetores mencionados

acima, onde o antagonismo dos recetores  $H_1$  resulta na sedação e aumento do apetite, o bloqueio dos recetores muscarínicos origina visão turva, retenção urinária, obstipação, xerostomia e défices cognitivos, e com o bloqueio dos recetores  $\alpha 1$ -adrenérgicos surgem a hipotensão ortostática, taquicardia e tonturas. (86)

A escolha do fármaco pelo clínico dependerá de vários fatores, nomeadamente, os antecedentes pessoais do doente, o estado clínico atual do doente, e a tolerabilidade e as respostas prévias a outros antipsicóticos eventualmente utilizados no passado. Não obstante, sabe-se que estes fármacos acarretam inúmeros efeitos adversos altamente limitantes que poderão comprometer a eficácia e a segurança da terapêutica contra esta patologia. (86)

### 3.4.2. Tratamento da Esquizofrenia com anti-histamínicos $H_3$

O composto ABT-288, como acima foi mencionado com potencial atividade contra a DA, foi testado também para o tratamento da esquizofrenia. Num ensaio clínico de fase 2, randomizado, duplo-cego, e controlado por placebo, foram avaliadas a eficácia e a segurança do composto, quando adicionado um antipsicótico ao regime terapêutico. Assim, durante 12 semanas, foi conduzido nos Estados Unidos um ensaio que envolveu 214 doentes com esquizofrenia. Os indivíduos foram separados em 3 grupos iguais onde num grupo foi administrado uma vez ao dia, 10mg de ABT-288, noutro 25mg, enquanto que no último grupo, foi utilizado placebo. (87) O resultado do ensaio não coincidiu com o esperado, apesar do composto ser bem tolerado pelo organismo. Houve um aumento na incidência de eventos adversos relativos aos surtos psicóticos e à perturbação do sono. Concluiu-se, então, que nenhuma das doses de ABT-288 resultou num incremento cognitivo em adultos com esquizofrenia. (87)

Um outro ensaio clínico de fase 2, randomizado, duplo-cego e controlado por placebo, utilizando desta vez o GSK-239512, foi conduzido com o objetivo de avaliar a eficácia terapêutica em indivíduos com comprometimento cognitivo associado à esquizofrenia. (88) É importante referir que o critério de inclusão *major* seria a estabilidade da doença promovida pela administração concomitante de um antipsicótico. GSK-239512, já descrito anteriormente, é um antagonista dos recetores  $H_3$  bastante potente, seletivo, e com uma boa taxa de penetração no cérebro, tendo mostrado a sua eficácia noutros estudos pré-clínicos em modelos animais. Os 50 doentes escolhidos para o estudo foram então divididos em 2 grupos, sendo que um deles foi submetido a uma



titulação de doses durante 7 semanas do composto GSK-239512, e o outro grupo recebeu o placebo. Os resultados deste estudo mostraram, de facto, uma boa tolerabilidade do composto com uma dose diária de 80 µg titulada durante 4 semanas e mantida durante as restantes 3 semanas. Contudo, o objetivo principal deste estudo não se verificou, ao que não houve qualquer tipo de benefício clínico. (88)

Também o composto MK-0249 não demonstrou ser uma mais valia no tratamento desta patologia, pelo que não se verificou a existência de uma diferença estatisticamente significativa em comparação com o placebo num estudo de fase 2, onde foi avaliado o seu efeito pró-cognitivo. Inclusive, a incidência de efeitos adversos foi maior durante o período de tratamento com MK-0249 em comparação com o placebo. (89) Por último, a Pfizer em 2011, sintetizou um composto denominado de PF-03654746. Em estudos pré-clínicos, o composto mostrou bons indicativos ao se ligar com alta afinidade ao recetor H<sub>3</sub> em ratinhos. (90) A sua segurança foi avaliada num estudo clínico de fase 1, em doentes com défice cognitivo inerente à esquizofrenia, onde foi administrado aos 16 participantes, um regime terapêutico com o composto durante 3 semanas, seguido de placebo. De momento, nenhum resultado foi publicado pelos investigadores. (91)

### **3.5. Anti-histamínicos H<sub>3</sub> no tratamento da Perturbação de hiperatividade e défice de atenção**

#### **3.5.1. Perturbação de hiperatividade e défice de atenção**

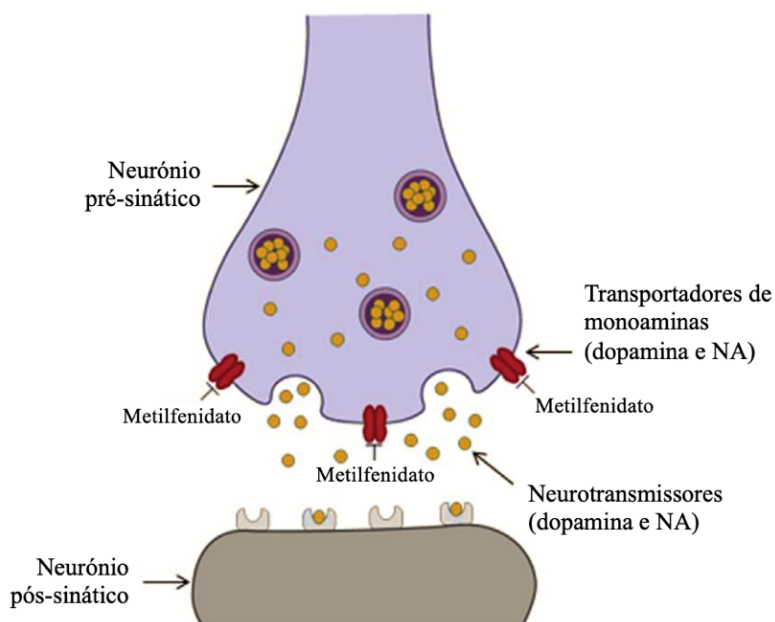
A PHDA é uma patologia caracterizada por um distúrbio do neurodesenvolvimento. Os sintomas mais comuns desta doença englobam a desatenção, hiperatividade e impulsividade e sabe-se que afeta cerca de 5% das crianças e adolescentes em todo o mundo e 2,5% em adultos. (92) (93)

A etiologia desta doença é multifatorial, onde vários estudos apontam como principal causa, a variabilidade genética dos genes que codificam os recetores e transportadores envolvendo o sistema catecolaminérgico, bem como o sistema serotoninérgico. (94) (95) Porém, os fatores ambientais também parecem apresentar algum grau de relevância no desenvolvimento desta patologia. Vários estudos epidemiológicos indicam que existe uma correlação entre a PHDA e fatores de risco durante os períodos pré e pós-natal, onde se incluem o stress, hábitos tabágicos e

alcoólicos, assim como a exposição a substâncias perigosas como o chumbo, condições psicossociais desfavoráveis e a alimentação. (95)

Tendo por base a principal origem desta perturbação já mencionada acima, atualmente, os fármacos utilizados incidem naturalmente nas vias das catecolaminas. A nível sinático, vai ocorrer um bloqueio nos transportadores da dopamina e NA, e, conseqüentemente, um incremento na concentração desses neurotransmissores no espaço extracelular no corpo estriado e no córtex pré-frontal. (93) (96) Estes transportadores medeiam seletivamente a recaptação de dopamina, NA e 5-HT, respetivamente, do espaço extracelular para o compartimento intracelular pré-sináptico. (97)

A primeira linha terapêutica é o metilfenidato, um estimulante do SNC, com ação inibitória dos transportadores de dopamina e NA (Figura III.6). Já como segunda linha terapêutica, a atomoxetina inibe, especificamente, o transportador da NA. Este fármaco, ao contrário do metilfenidato, insere-se na subclasse não-estimulante do SNC, onde vai impedir a recaptação, e, desta forma, aumentar a neurotransmissão de NA para todas as regiões do cérebro. (93) (97) Os efeitos adversos mais visíveis destas terapêuticas incluem a diminuição do apetite, distúrbios do sono, náuseas, xerostomia, cefaleias e irritabilidade. Embora estes efeitos sejam transversais a todas as idades, é de notar uma frequência maior nas crianças. (98)



**Figura III.6** – Mecanismo de ação do metilfenidato. O fármaco vai ligar ao transportador de monoaminas, inibindo, assim, a recaptação dos neurotransmissores dopamina e NA. Conseqüentemente, a quantidade dos mesmos na fenda sinática vai estar aumentada. NA – noradrenalina. Adaptado de (99)

Embora esteja demonstrado que estes fármacos aumentam as concentrações de dopamina e NA na fenda sinática, existe evidência científica acerca dos níveis de histamina no córtex pré-frontal também estarem aumentados. (100) Uma vez que estes fármacos têm efeitos adversos significativos e um grande potencial de sobredosagem pelos efeitos psicotrópicos estimulantes, os antagonistas do recetor H<sub>3</sub> podem representar uma opção adequada à terapêutica atual.

### **3.5.2. Tratamento da Perturbação de hiperatividade e défice de atenção com anti-histamínicos H<sub>3</sub>**

O composto JNJ-31001074, ou Bavisant, é antagonista dos recetores H<sub>3</sub>, e revelou uma boa penetração no SNC e uma taxa de ocupação do recetor superior a 80% utilizando ratinhos. (101) Noutros ensaios, desta vez ensaios de fase 1, foram estudadas a segurança e a farmacocinética do composto no que diz respeito à sua absorção, distribuição, metabolização e eliminação, em crianças e adolescentes com PHDA e idades compreendidas entre os 6-11 anos e 12-17 anos, respetivamente, na qual ainda não foram publicados quaisquer resultados experimentais. (55) (102) (103) Em contrapartida, a eficácia e a segurança em adultos foram testadas em 2 ensaios clínicos distintos, ambos de fase 2. No primeiro, um estudo randomizado e duplo-cego foi conduzido envolvendo 32 participantes divididos em 3 grupos: no primeiro grupo administrou-se 10 mg de JNJ-31001074, noutro grupo 30 mg de JNJ-31001074, e no último, utilizou-se o placebo. Porém, os resultados deste ensaio ainda não se encontram disponíveis. (104) No segundo estudo igualmente duplo-cego e randomizado, os 430 participantes foram divididos em 6 grupos: JNJ-31001074 a 1,3,10 mg/dia, metilfenidato 54 mg/dia, atomoxetina 80 mg/dia, e no último grupo o placebo. Concluiu-se que o composto não diferiu do placebo, enquanto que o metilfenidato e a atomoxetina foram eficazes. Assim sendo, o composto não apresentou eficácia clínica significativa no tratamento de adultos com PHDA. (105)

À semelhança da esquizofrenia, o composto MK-0249 foi também estudado com potencial indicação terapêutica na PHDA. O ensaio de fase 2 decorreu de forma randomizada, controlado por metilfenidato e placebo, e em duplo-cego onde o principal objetivo seria avaliar a sua segurança e eficácia no organismo humano. Os resultados mostraram uma eficácia semelhante ao placebo, enquanto que houve um benefício significativo do metilfenidato quando comparado ao placebo. (106)

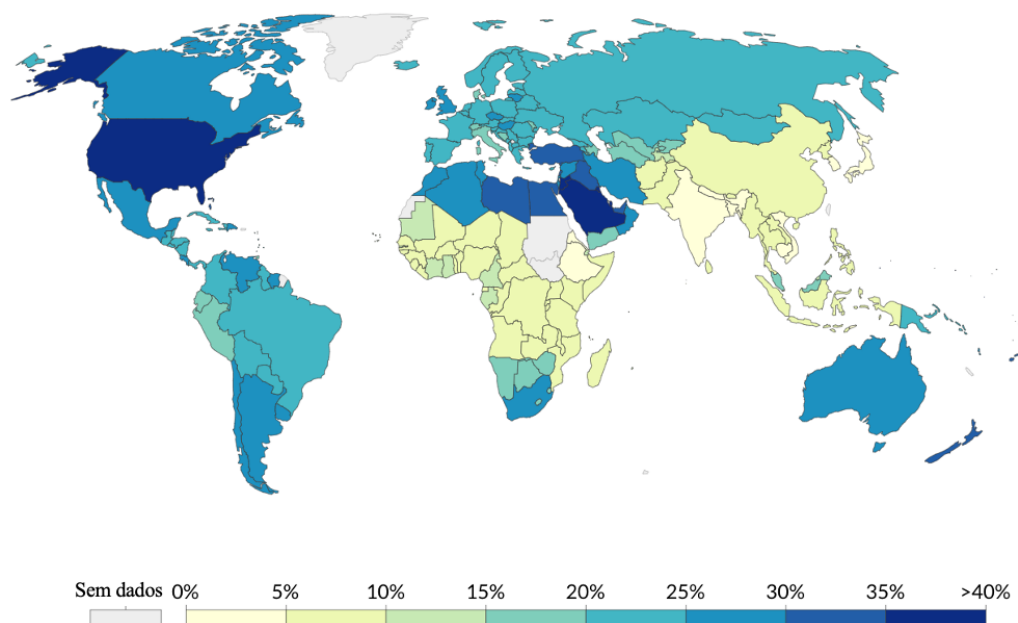
## 3.6. Anti-histamínicos H<sub>3</sub> no tratamento da Obesidade

### 3.6.1. Obesidade

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a obesidade é uma doença crónica que se caracteriza pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo corporal capaz de afetar o dia-a-dia do indivíduo, podendo ter diversos efeitos indesejáveis sobre a saúde, o que leva a uma expectativa de vida mais reduzida. O excesso de peso advém de um desequilíbrio energético entre as calorias consumidas e as calorias gastas, que culmina no incremento de tecido adiposo no organismo (107)

Para fazer um diagnóstico correto da obesidade são utilizados vários parâmetros antropométricos, nomeadamente, a estatura, o peso, o perímetro de cintura e a percentagem de massa gorda. Através da estatura e do peso é possível calcular o índice de massa corporal (IMC) que permite avaliar o estado nutricional nos adultos e classificar os mesmos nas categorias de baixo peso, peso normal, excesso de peso e obesidade. Desta forma, a OMS considera que um indivíduo se encontra abaixo do peso ideal quando o seu IMC é inferior a 18,5 kg/m<sup>2</sup>. Os valores normais de IMC são entre os 18,5 e os 24,9 kg/m<sup>2</sup>. Em contrapartida, valores acima de 25 kg/m<sup>2</sup> já são considerados como excesso de peso, sendo que a obesidade é atingida quando o IMC é superior ou igual a 30 kg/m<sup>2</sup>. Apesar deste parâmetro ser amplamente utilizado, não considera a distribuição da gordura corporal, pelo qual o perímetro de cintura é uma alternativa mais aconselhada, uma vez que permite avaliar de uma forma mais precisa a massa gorda abdominal. Esta medição é particularmente importante, na medida em que a gordura visceral é a que tem maior significado clínico devido a um risco cardiovascular e metabólico acrescido. (107) (108)

De acordo com os últimos dados publicados pela OMS em 2016, a prevalência da obesidade triplicou desde 1975, verificando-se que 13% dos adultos a nível mundial são obesos (Figura III.7). (107)



**Figura III.7** – Distribuição mundial da porcentagem de adultos obesos em 2016. Adaptado de (109)

As alterações fisiopatológicas que advêm da obesidade ocorrem em vários sistemas orgânicos. Existe um risco aumentado do aparecimento de doenças do foro cardiovascular, atribuível à capacidade do excesso de adipócitos induzir mudanças na função e estrutura cardíaca. Além disso, a obesidade contribui para o aumento do risco de desenvolvimento de várias comorbilidades associadas como a hipertensão, diabetes *mellitus*, dislipidémias e a apneia do sono. (110)

O ponto fulcral para o tratamento de um doente com obesidade passa primeiramente pelas medidas não farmacológicas, nomeadamente, uma intervenção nos estilos de vida praticados, uma mudança na dieta de modo a reduzir a ingestão de calorias e um aumento da atividade física. (111) Concomitantemente com as medidas não farmacológicas, poderá ser necessário a adição de um esquema farmacoterapêutico em doentes com falhas no alcance dos objetivos terapêuticos para a obesidade. (111)

O orlistato, um inibidor das lipases pancreáticas e gástricas, promove uma perda de peso ao diminuir a absorção das gorduras no trato gastrointestinal. Os doentes que necessitem de tomar orlistato devem seguir uma dieta nutricionalmente equilibrada e, naturalmente, baixa em teor calórico, assim como a toma adicional de multivitamínicos, aconselhados por profissionais de saúde qualificados para o efeito, uma vez que ao diminuir a absorção de gorduras, inibe conseqüentemente a absorção de vitaminas lipossolúveis como a vitamina A, D, E, e K. Além de promover a perda de peso, o orlistato

reduz os níveis séricos de glicose, melhora a sensibilidade à insulina, e reduz a pressão arterial, o colesterol total e o colesterol LDL. Contudo, este medicamento não é comumente usado para o controle da obesidade devido aos seus efeitos adversos como as fezes oleosas, incontinência fecal e desconforto gastrointestinal. (112)

O liraglutido, agonista dos recetores GLP-1, estimula a secreção de insulina e reduz a secreção de glucagon do pâncreas. Os mecanismos inerentes à perda de peso incluem a diminuição do apetite e o desejo pela comida. Os efeitos do liraglutido são desencadeados principalmente pela perda de peso, nomeadamente acompanhado de uma redução da pressão arterial, dos triglicéridos e um aumento no colesterol HDL. Os efeitos adversos mais comuns são as náuseas e os vômitos. (113)

O sistema histaminérgico tem um papel de extrema importância no que toca a esta doença. Assim, denotou-se que um dos efeitos adversos mais comuns, em doentes sujeitos a terapêutica com antipsicóticos, era o aumento do apetite e o conseqüente aumento de peso. Os antipsicóticos (já mencionados anteriormente como tendo ação anti-histamínica H<sub>1</sub>) foram o ponto de partida para estudar mais detalhadamente os mecanismos subjacentes a esta temática. (114)

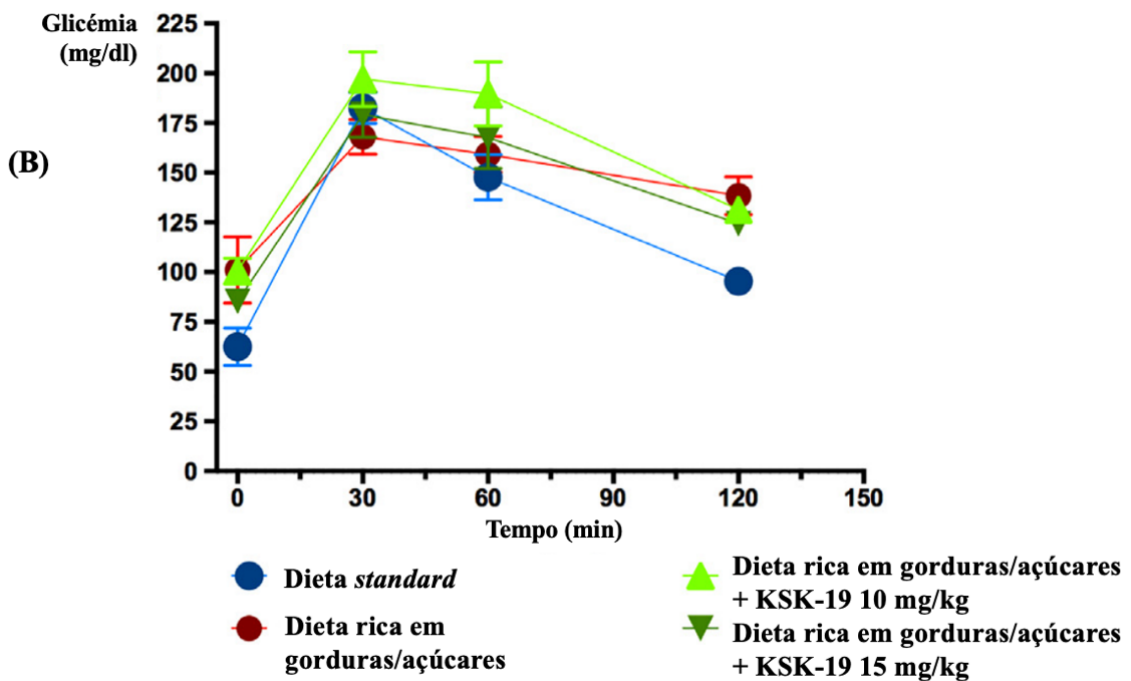
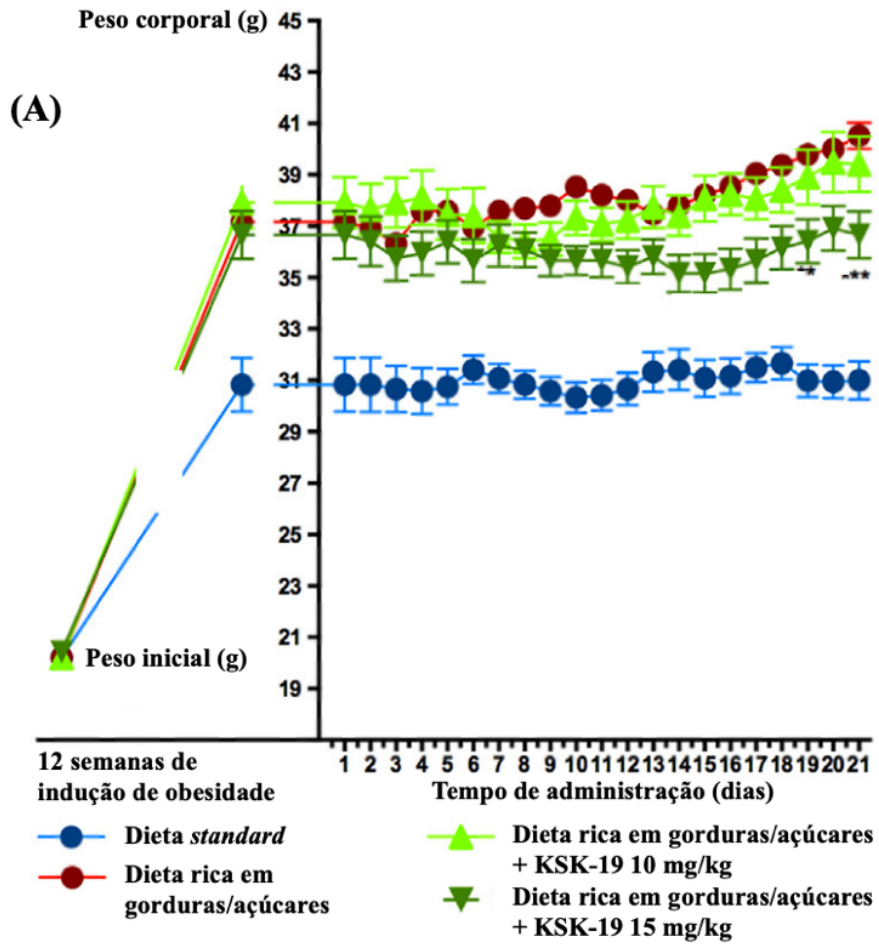
A administração em ratinhos de um agonista do receptor H<sub>1</sub> com a posterior ativação do recetor resultou numa diminuição da ingestão de alimentos e numa redução do peso corporal. Por outro lado, o antagonismo do receptor H<sub>3</sub> da histamina pré-sináptica resultou no mesmo efeito, além de induzir a lipólise no tecido adiposo, utilizando a tioperamida. Em contraste, a administração intracerebral de um antagonista do receptor H<sub>1</sub> aumentou a ingestão de alimentos em ratinhos. (114-116) Com estes resultados, é possível concluir que a histamina para além do seu papel como neurotransmissor, também pode funcionar como um agente anorexígeno. (114)

### **3.6.2. Tratamento da Obesidade com anti-histamínicos H<sub>3</sub>**

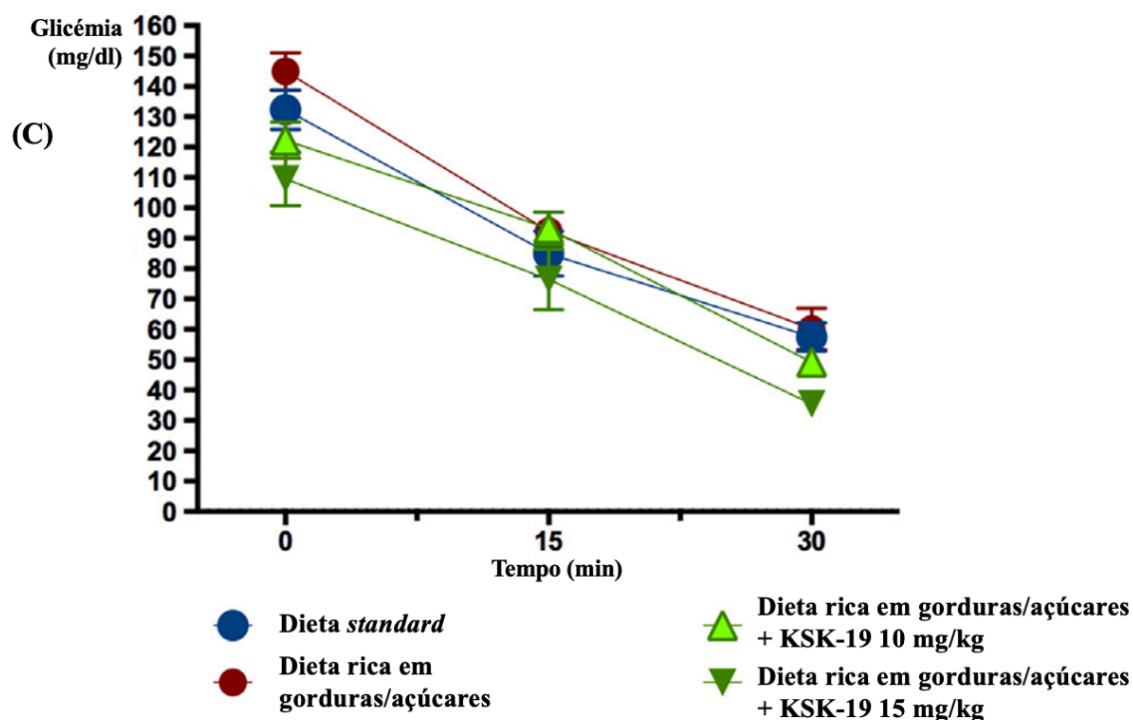
O composto KSK-19, um ligando bastante seletivo para o recetor H<sub>3</sub> e com propriedade antagonista para o mesmo, foi utilizado num estudo com o objetivo de estudar a sua influência no peso corporal e nos níveis plasmáticos de glicose, através da aplicação de um teste de tolerância à glicose, assim como um teste de sensibilidade à insulina. (117) Os ratinhos foram submetidos a uma dieta rica em gorduras saturadas e açúcares durante 15 semanas de forma a induzir a obesidade. No final da 12<sup>a</sup> semana, os ratinhos foram divididos em 3 grupos: um deles foi administrado KSK-19 10 mg/kg de

peso corporal, noutro KSK-19 15 mg/kg de peso corporal e no último, um veículo à base de *Tween* 80 com a função de grupo controlo da obesidade. A administração diária destes compostos decorreu durante 21 dias (entre a 12<sup>a</sup> semana e a 15<sup>a</sup> semana). Porém, um outro grupo de ratinhos não sujeitos à dieta rica em gordura também foi incluído no estudo, funcionando como grupo controlo. O teste de tolerância à glicose foi realizado no início da 15<sup>a</sup> semana. A glicose 1g/kg de peso corporal foi administrada via intraperitoneal, onde as amostras de sangue foram colhidas antes da injeção, e 30, 60 e 120 minutos depois. A resistência à insulina foi testada com um jejum de 3 horas. Foi administrada a insulina 0,5 UI/kg peso corporal pela mesma via e as amostras de sangue foram recolhidas nos tempos 0, 15 e 30 minutos. (117)

A influência do KSK-19 no peso corporal dos ratinhos apenas foi demonstrada na dose de 15 mg/kg de peso corporal, tendo sido observada uma redução no peso ao longo do período de administração. Ao passo que o peso nos ratinhos no grupo controlo manteve-se igual (Figura III.8-A). Os níveis plasmáticos de glicose em jejum nos grupos controlo de obesidade e no grupo administrado com KSK-19 na dose de 10 mg/kg de peso corporal foram significativamente maiores em comparação com os níveis glicémicos dos ratinhos controlo, alimentados com uma dieta *standard*. Contrariamente, a glicémia medida nos ratinhos tratados com KSK-19 na dose de 15 mg/kg de peso corporal aproximou-se dos níveis determinados no grupo controlo alimentados com uma dieta *standard*. Após o teste de tolerância, a glicémia de todos os grupos alimentados com uma dieta rica em gordura/açúcar foi significativamente maior do que os níveis do grupo com dieta *standard*, ainda que inferiores ao valor obtido no grupo controlo da obesidade (Figura III.8-B). A glicémia antes do teste de sensibilidade à insulina era significativamente menor no grupo KSK19 15 mg/kg em comparação com os níveis no grupo de controlo de obesidade, o que permitiu concluir que este composto mostrou um efeito bastante positivo na diminuição da glicémia (Figura III.8-C). (117)







**Figura III.8** – Representação gráfica dos efeitos do composto KSK-19 nos ratinhos. A – Diferença no peso corporal dos ratinhos ao longo do estudo em função do tempo de administração do composto. B – Teste de tolerância à glicose nos tempos 0, 30, 60 e 120 minutos após a administração nos diferentes grupos. C – Teste de sensibilidade à insulina nos tempos 0, 15 e 30 minutos. Adaptado de (117)

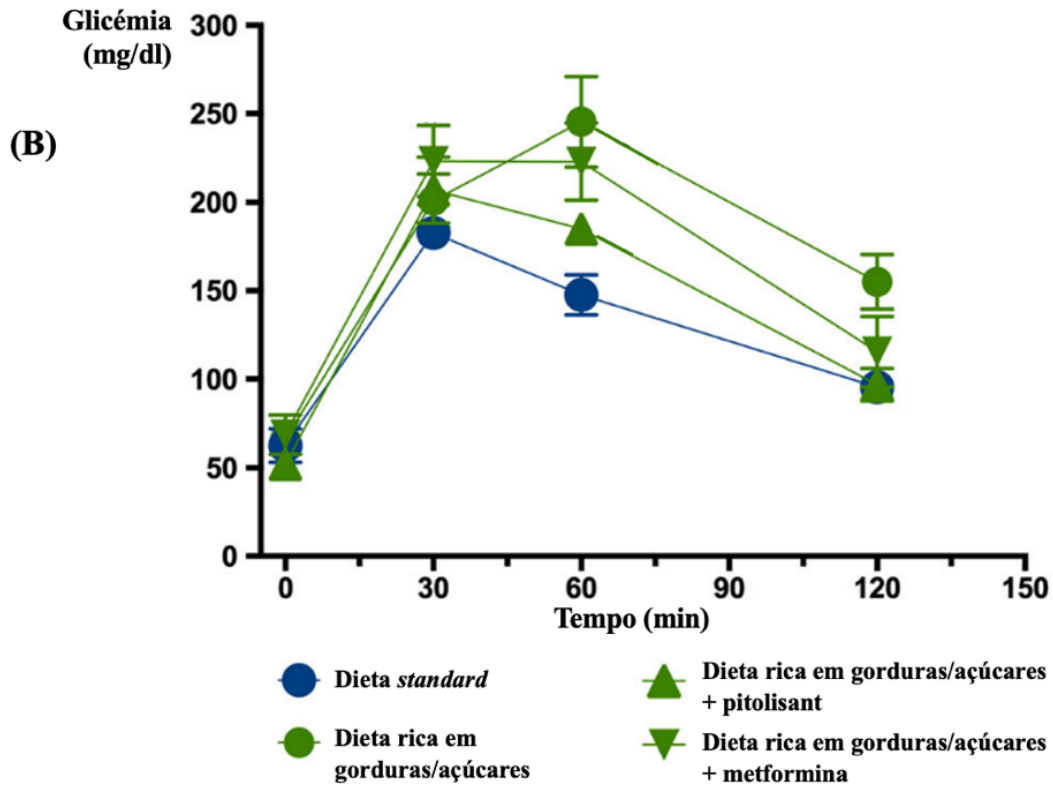
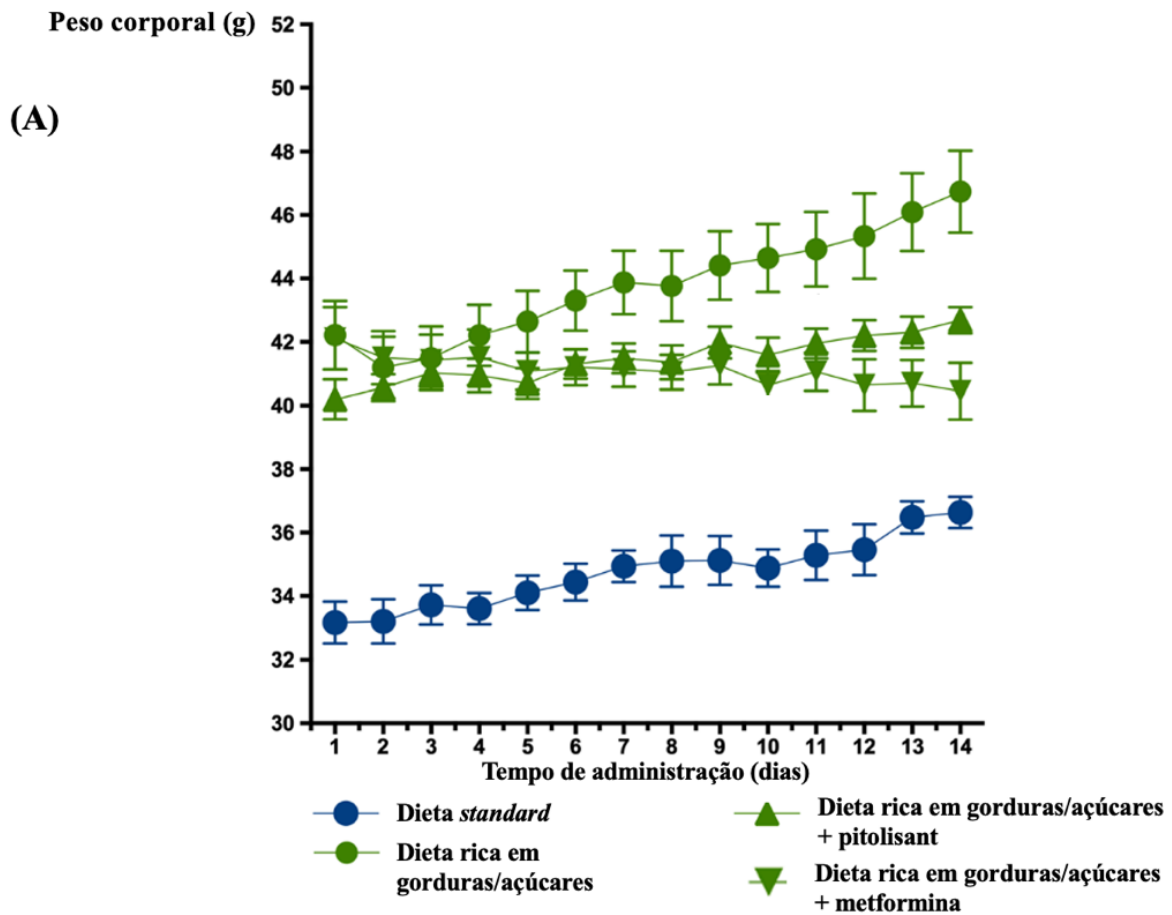
Apesar do número de ratinhos utilizados no ensaio serem suficientes para obter resultados estatisticamente significativos, a amostra considerou-se, ainda assim, pequena. A realização de testes em grupos maiores pode corroborar as informações obtidas, e serão necessários mais estudos para elucidar o mecanismo de atividade de KSK-19. Contudo, ficou comprovado que este composto anti-histamínico  $H_3$ , afeta positivamente o peso corporal, melhora a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina em ratos obesos. (117)

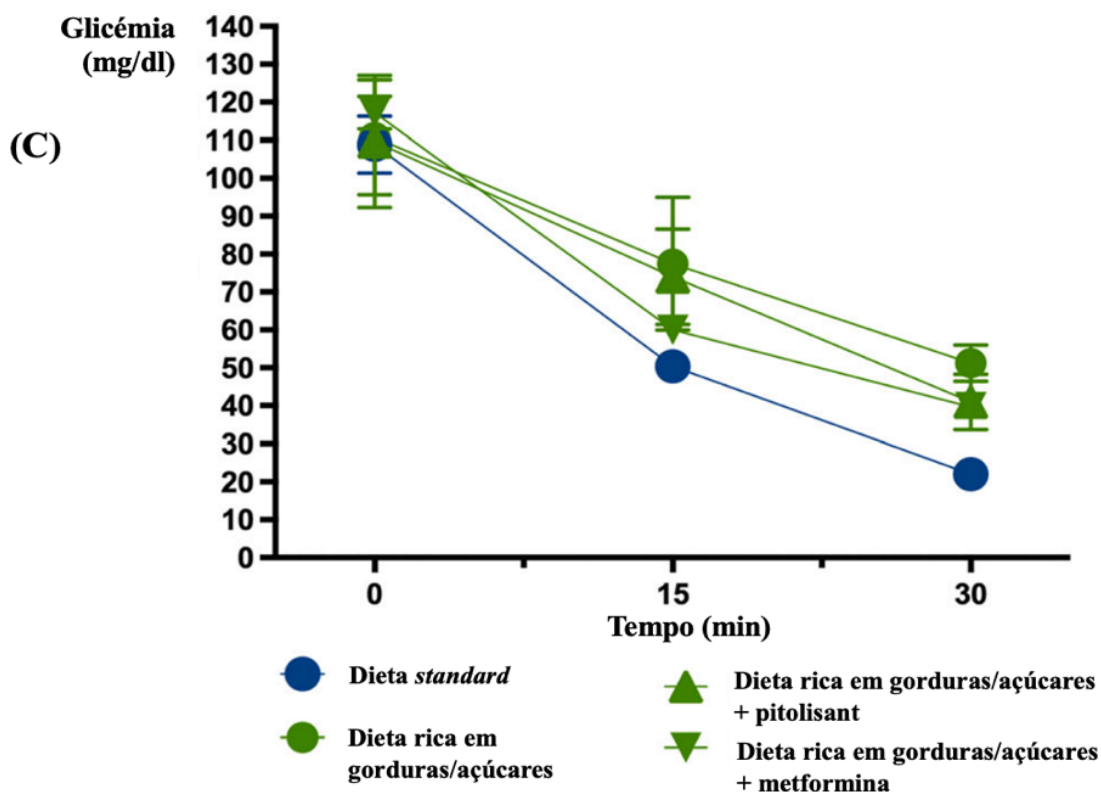
Um outro estudo conduzido pela mesma equipa de investigadores do anterior, avaliou a influência do pitolisant no peso corporal, em ratinhos com obesidade induzida por uma dieta rica em gorduras saturadas e açúcares durante 14 semanas. (118) Uma vez mais, no final da 12ª semana, os ratinhos foram divididos em 3 grupos: um deles foi administrado com pitolisant 10 mg/kg de peso corporal, outro com metformina 100 mg/kg de peso corporal, e o último recebeu um veículo à base de *Tween* 80 com a função de grupo controlo da obesidade. A administração diária ocorreu durante 14 dias (entre a 12ª semana e a 14ª semana) e o grupo controlo (sem indução de obesidade) foi mantido com

uma dieta *standard*. O teste de tolerância à glicose foi realizado no início da 15ª semana. A glicose 1g/kg de peso corporal foi administrada via intraperitoneal, e as amostras de sangue foram colhidas antes da injeção, e 30, 60 e 120 minutos após. A resistência à insulina foi testada com um jejum de 3 horas mediante a administração de insulina 0,5 UI/kg peso corporal pela mesma via e as amostras de sangue foram recolhidas nos tempos 0, 15 e 30 minutos. (118)

Os ratinhos do grupo controle com obesidade mostraram um aumento de peso significativo durante os 14 dias de tratamento. Denotou-se um aumento de peso menor no grupo tratado com o pitolisant quando comparado com o grupo anterior, porém, o grupo da metformina, que serviu como controle positivo, reduziu o peso corporal a partir do nono dia de administração, exibindo o melhor resultado de todos os grupos (Figura III.9-A). O resultado do teste de tolerância à glicose revelou-se um sucesso na medida em que glicemia reduziu significativamente, não havendo diferenças entre o grupo pitolisant e o grupo de controle com a dieta *standard* (Figura III.9-B). No teste de sensibilidade à insulina, ambos os grupos (pitolisant e metformina) diminuíram de forma igual a glicose no sangue (Figura III.9-C). As variações na colesterolémia e trigliceridémia também foram verificadas neste estudo. O grupo de controle da obesidade apresentou valores bastante elevados, contrariamente aos níveis obtidos nos grupos tratados com pitolisant e metformina, nos quais se revelaram significativamente mais baixos. (118)

Todavia, uma das limitações deste estudo incide na duração do tratamento. Apenas uma administração mais prolongada mostraria na verdade se o fármaco é capaz de induzir uma redução de peso significativa para ser considerado um medicamento eficaz no tratamento da obesidade. Para já, este estudo indicou que o pitolisant afeta favoravelmente o peso corporal, melhora a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina, assim como o perfil lipídico em ratinhos induzidos com obesidade. (118)





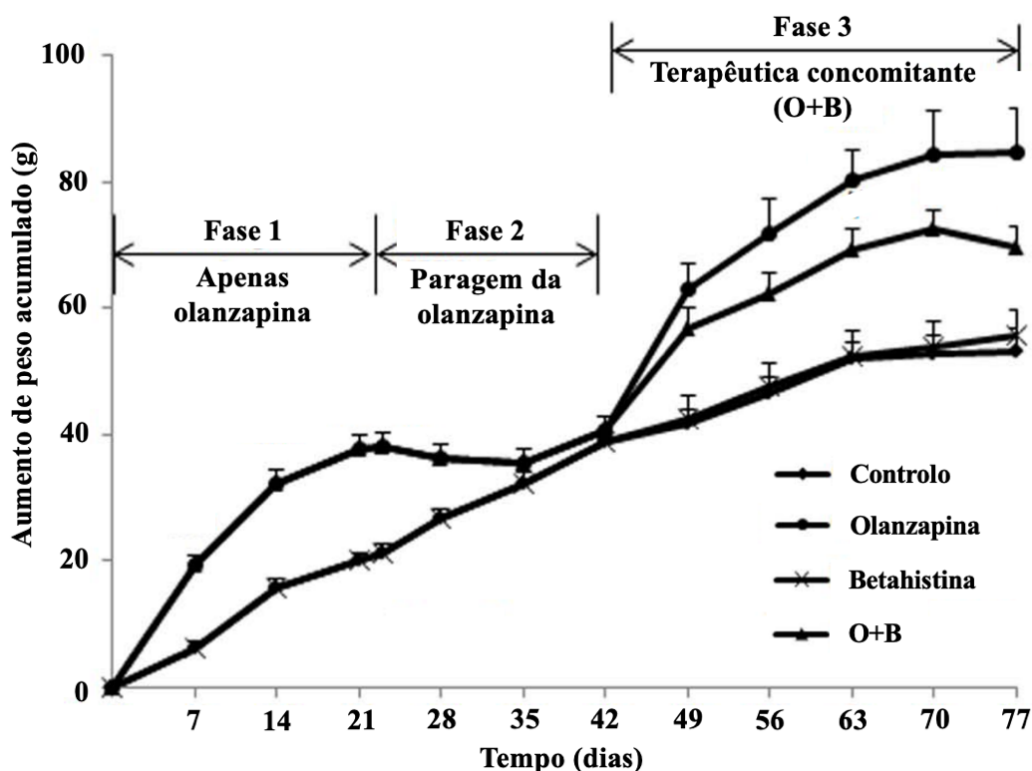
**Figura III.9** – Representação gráfica dos efeitos do pitolisant nos ratinhos. A – Diferença no peso corporal dos ratinhos ao longo do estudo em função do tempo de administração do pitolisant e metformina. B – Teste de tolerância à glicose nos tempos 0, 30, 60 e 120 minutos após a administração. C – Teste de sensibilidade à insulina nos tempos 0, 15 e 30 minutos após a administração. Adaptado de (118)

A betahistina, um agonista para o recetor  $H_1$  e antagonista para o  $H_3$ , tem sido alvo de muitos estudos inerentes ao seu potencial efeito reversível do aumento de peso como consequência da administração crónica de antipsicóticos de 2ª geração. Este agonismo e antagonismo dos recetores  $H_1$  e  $H_3$ , respetivamente, pode resultar numa redução da ingestão de alimentos e atenuar o aumento de peso. (119)

Neste sentido, um estudo com 48 ratinhos foi conduzido de forma a comprovar o efeito reversível da betahistina no aumento de peso. Durante 3,5 semanas, os ratinhos foram divididos em 2 grupos ( $n=24$ ), na chamada fase 1. Em 24 deles foi administrado olanzapina (antipsicótico de 2ª geração) 1 mg/kg de peso corporal 3x/dia, enquanto que os restantes 24 ratinhos apenas receberam uma solução veículo. Na fase 2, durante 2,5 semanas, ao primeiro grupo foi retirada a olanzapina do esquema terapêutico, passando todos os ratinhos a receber o veículo. A partir da 6ª semana, os 48 ratinhos foram novamente separados em grupos de 12, na fase 3: ao grupo 1 foi administrado olanzapina

1 mg/kg de peso corporal 3x/dia, o grupo 2 recebeu um tratamento com olanzapina+betahistina (O+B) (1 mg/kg de peso corporal 3x/dia + 9,6 mg/kg de peso corporal 3x/dia), ao grupo 3 foi-lhes concedido betahistina 9,6 mg/kg de peso corporal 3x/dia, e por fim, ao último grupo de novo o veículo, correspondendo ao controlo. A administração dos fármacos mencionados acima decorreu durante 5 semanas. (120)

Na fase 1, o tratamento com olanzapina fez aumentar significativamente o peso corporal em comparação com o grupo administrado com o veículo. Na fase 2, aquando da paragem do tratamento com olanzapina, o grupo previamente exposto ao medicamento diminuiu notavelmente o peso corporal, enquanto que o grupo apenas com o veículo aumentou de peso de forma constante. No final da fase 2, ambos os grupos apresentaram o mesmo peso corporal. Na última fase, fase 3, o grupo apenas com olanzapina aumentou significativamente o peso corporal em comparação com o grupo controlo durante o período de tratamento de 5 semanas. Por outro lado, embora o grupo O+B tenha um ganho de peso superior aos grupos controlo e betahistina em monoterapia, existe um aumento de peso corporal significativamente menor do que o grupo administrado apenas com olanzapina durante as 5 semanas. No entanto, o tratamento apenas com betahistina não teve diferença significativa no aumento de peso em comparação com o grupo controlo (Figura III.10). Desta forma, conclui-se que o tratamento concomitante de olanzapina e betahistina pode reduzir ou atenuar parcialmente o aumento de peso induzido pelo tratamento crónico com olanzapina, ou outros antipsicóticos de 2ª geração. (120)



**Figura III.10** – Representação gráfica do aumento de peso corporal acumulado dos ratinhos em função do tempo. Denota-se um aumento de peso gradual na fase 1 no grupo “olanzapina”. Na fase 2, referente à paragem da terapêutica com olanzapina, o peso acumulado do grupo diminuiu. No final do estudo, o grupo que exibiu um maior peso corporal acumulado foi o grupo “Olanzapina”, seguido do grupo “O+B”, e por último, os grupos “Betahistina” e “Controlo”. Adaptado de (120)

### 3.7. Reflexão sobre as perspetivas futuras de tratamento

No decorrer da pesquisa bibliográfica, o recetor  $H_3$  apresentava-se como um excelente alvo terapêutico para o tratamento de doenças do SNC, uma vez que para além de modificar a libertação de histamina nos auto-recetores, também exercia um efeito modulador da libertação da dopamina, noradrenalina, acetilcolina, glutamato e GABA. É sabido que a maioria destas doenças resulta de uma desregulação ao nível dos neurotransmissores na fenda sinática.

Rapidamente foi fácil entender que muitos foram os compostos sintetizados com atividade de agonista inverso/antagonista para o recetor histamínico  $H_3$  na última década, e no que concerne à sua estrutura, a maioria insere-se nos anti-histamínicos  $H_3$  não

imidazólicos, em virtude das lacunas de natureza farmacocinética e farmacodinâmica inerentes aos compostos imidazólicos.

Em teoria, estavam reunidas todas as condições para que este novo alvo constituísse uma boa alternativa terapêutica nestas doenças. Na prática, os resultados revelaram-se um pouco diferentes do expectável, pelo que ao analisar detalhadamente os dados disponíveis para cada uma das patologias descritas poderá retirar-se algumas conclusões.

Desde logo, a narcolepsia corresponde a uma doença do SNC com especial interesse neste âmbito, uma vez que foi aprovado o primeiro anti-histamínico H<sub>3</sub>, o pitolisant (Wakix®), pelas entidades reguladoras do medicamento nos Estados Unidos e na Europa, precisamente para o tratamento desta patologia. Os compostos APD-916 e JNJ-17216498, em modelos animais exibiram uma boa seletividade para o recetor, assim como um efeito benéfico na vigília. Contudo, os resultados dos ensaios clínicos realizados utilizando estes compostos não se encontram ainda disponíveis, pelo que seria de enorme importância dispor de mais informações e deste modo retirar conclusões com um maior rigor científico.

Já na DA, os dados disponíveis são mais satisfatórios. Denota-se à partida uma maior pesquisa e síntese de novos compostos com atividade anti-histamina, causado pela imperiosa necessidade de procurar alternativas à terapêutica atual. Os compostos AZD-5213, GSK-189254 e GSK-239512, MK-3134, destacaram-se dos restantes pela segurança, eficácia e tolerabilidade comprovadas em ensaios clínicos de fase 1. Também os compostos S 38093 e SAR-110894 mostraram bons indicativos no incremento cognitivo em modelos animais. Espera-se, então, que estes compostos sejam utilizados num futuro próximo em ensaios clínicos de fase 1.

Na esquizofrenia e na PHDA, a evidência científica fica aquém do que era esperado. Nenhum dos compostos abordados resultou num benefício clínico em ensaios clínicos de fase 2 e de fase 1, respetivamente. Com base nestes resultados, poder-se-á afirmar que o papel do sistema histaminérgico nestas patologias necessita de ser estudado em maior pormenor, assim como a estrutura dos novos compostos anti-histamínicos.

Por último, a obesidade, que apesar de não ser diretamente uma doença do SNC, a mecanística subjacente a ela pode advir de desregulações a nível central, como os distúrbios alimentares. Os três compostos avaliados, KSK-19, pitolisant e a betahistina, demonstraram resultados muito satisfatórios e prometedores em ensaios pré-clínicos utilizando ratinhos. Os dois primeiros culminaram na diminuição substancial de peso, assim como numa melhoria da tolerância à glicose e sensibilidade à insulina. Por outro

lado, a betahistina demonstrou a sua eficácia ao reverter o aumento de peso associado à administração de olanzapina, um antipsicótico de 2ª geração. Apesar da amostra reduzida e do tempo limitado de estudo em todos os ensaios, estes três compostos anti-histamínicos demonstraram ser uma mais valia em modelos animais no controlo da doença. Desta forma, aguarda-se a sua aplicação em ensaios clínicos de forma a corroborar os dados obtidos nos ratinhos.

A pertinência deste tema é, de facto, muito grande, e a investigação na área tem aumentado cada vez mais à medida que se torna imprescindível encontrar novos fármacos que sirvam como alternativa terapêutica nestas patologias. Todavia, ainda que os resultados, numa maioria, não sejam prometedores, espera-se que, com um estudo mais afincado sobre o recetor, sobre o papel da histamina e sobre a relação estrutura-atividade dos novos compostos, resulte na aprovação futura de mais anti-histamínicos H<sub>3</sub>. Assim, é possível concluir que existe um enorme potencial no recetor histamínico H<sub>3</sub> para o tratamento de patologias que afetem o SNC.



## IV. Conclusão

A identificação e caracterização do recetor histamínico H<sub>3</sub> permitiu aprimorar a compreensão quer da farmacologia inerente ao recetor, quer da própria histamina. Esta amina biogénica, descrita inicialmente como apenas um mediador inflamatório e com um papel importante na estimulação da secreção do ácido gástrico, é considerada atualmente como um neurotransmissor. (42)

O recetor histamínico H<sub>3</sub> localiza-se maioritariamente no córtex cerebral, hipocampo, corpo estriado e no hipotálamo, onde a presença de neurónios histaminérgicos é muito grande. Por mecanismos de *feedback* negativo, inibe a síntese e libertação de histamina, ao mesmo tempo que modula a libertação de inúmeros neurotransmissores, incluindo a dopamina, noradrenalina, acetilcolina, glutamato e GABA. (44) Desta forma, o sistema histaminérgico apresenta um papel preponderante na modulação de diferentes funções cerebrais, como os processos de cognição, de memória, e vigília (43)

A característica de modulador dos neurotransmissores mencionados anteriormente, fez com que este recetor se tornasse alvo de muitos estudos na tentativa de obter efeitos terapêuticos em variadas doenças do SNC como a narcolepsia, doença de Alzheimer, esquizofrenia, perturbação da hiperatividade e défice de atenção, e ainda a obesidade. (44) A eficácia limitada da terapêutica atual para os sintomas cognitivos destas doenças neuropsiquiátricas, tem direcionado a indústria farmacêutica para a investigação e desenvolvimento de novos compostos anti-histamínicos com futura aplicação na prática clínica. (11)

Contudo, nos últimos anos, vários foram os ensaios clínicos realizados, e na sua maioria, não tiveram qualquer sucesso. A principal razão para este falhanço deve-se à incapacidade de se conseguir reproduzir exatamente no organismo humano, aquilo que é testado e observado em modelos animais. (121)

Este trabalho bibliográfico contribuiu para uma compreensão mais aprofundada e sustentada acerca de um dos mais recentes recetores histamínicos, o recetor H<sub>3</sub>, assim como dos compostos anti-histamínicos em ensaios pré-clínicos e clínicos, sintetizados com afinidade para o mesmo. Conclui-se, assim, que o estudo deste recetor, assim como das moléculas abordadas, deveria ser mais explorado para que num futuro próximo estes agentes possam contribuir como alternativas terapêuticas válidas no tratamento de doenças no SNC, que afetam milhões de indivíduos em todo o mundo.

## Referencias bibliográficas

- (1) Tiligada E, Ennis M. Histamine pharmacology: from Sir Henry Dale to the 21st century. *Br J Pharmacol.*, 177:3, pp. 469-489, 2020
- (2) Yoshikawa T, Nakamura T, Yanai K. Histaminergic neurons in the tuberomammillary nucleus as a control centre for wakefulness. *Br J Pharmacol.*, 178:4, pp. 750-769, 2021
- (3) Cataldi M, Granata F. Histamine Receptors and Antihistamines: From Discovery to Clinical Applications. *Chem Immunol Allergy*, vol. 100, pp. 214-226, 2014
- (4) Figueroa K, Shankley N. One hundred years of Histamine Research. *Adv Exp Med Biol.*, 709, pp. 1–9, 2010
- (5) Parsons ME, Ganellin CR. Histamine and its receptors. *Br J Pharmacol.*, 147, pp. 127–135, 2006
- (6) Church MK, Maurer M. Antihistamines. *Chem Immunol Allergy*, 100, pp. 302–310, 2014
- (7) Ozkan J. Sir James Whyte Black: The Nobel Legacy in Cardiology for propranolol for the Nobel Prize in Physiology or Medicine. *Eur Heart J.*, 40:30, pp. 2471–2472, 2019
- (8) Nijmeijer S, De Graaf C, Leurs R, [et al]. Molecular pharmacology of histamine H4 receptors. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 17:6, pp. 2089–2106, 2012
- (9) Panula P, Nuutinen, S. The histaminergic network in the brain: Basic organization and role in disease. *Nat Rev Neurosci.*, 14:7, pp. 472-487, 2013
- (10) Haas H, Sergeeva O, Selbach O. Histamine in the nervous system. *Physiol Rev.*, 88:3, pp. 1183-1241, 2008
- (11) Sadek B, Saad A, Sadeq A. Histamine H3 receptor as a potential target for cognitive symptoms in neuropsychiatric diseases. *Behav Brain Res.*, vol. 312, pp. 415-430, 2016
- (12) Comas-Basté O, Sánchez-Pérez S, Veciana-Nogués M. Histamine intolerance: The current state of the art. *Biomolecules*, 10:8, pp. 1181, 2020
- (13) Waldum HL, Sørđal ØF, Mjønes PG. The enterochromaffin-like [ECL] cell-central in gastric physiology and pathology. *Int J Mol Sci.*, 20:10, pp. 2444, 2019
- (14) González-Deolano D, Álvarez-Twose I. Mast cells as key players in allergy and inflammation. *J Investig Allergol Clin Immunol.*, 28:6, pp. 365-378, 2018

- (15) Church MK. Allergy, Histamine and Antihistamines. *Handb Exp Pharmacol.*, 241, pp. 221–231, 2017
- (16) Tatarkiewicz J, Rzodkiewicz P, Żochowska M, Bujalska-Zadrożny M, Staniszevska A. New antihistamines – Perspectives in the treatment of some allergic and inflammatory disorders. *Arch Med Sci.*, 15:2, pp. 537-553, 2019
- (17) Zlomuzica A, Dere D, Binder S, [et al]. Neuronal histamine and cognitive symptoms in Alzheimer’s disease. *Neuropharmacology*, vol. 106, pp. 135–145, 2016
- (18) Scammell TE, Jackson AC, Franks NP, [et al]. Histamine: Neural circuits and new medications. *Sleep*, 42:1, 2019
- (19) Ghamari N, Zarei O, Arias-Montaña JA, [et al]. Histamine H3 receptor antagonists/inverse agonists: Where do they go? *Pharmacol Ther.*, vol. 200, pp. 69-84, 2019
- (20) Ebeigbe AB, Talabi OO. Vascular effects of histamine. *Niger J Physiol Sci.*, 29:1, pp. 7–10, 2014
- (21) Hattori Y, Hattori K, Matsuda N. Regulation of the Cardiovascular System by Histamine. *Handb Exp Pharmacol.* Vol. 241, pp. 251–263, 2015
- (22) Dunford PJ, Holgate ST. The role of histamine in asthma. *Adv Exp Med Biol.*, vol. 709, pp. 53–66, 2010
- (23) Papi A, Brightling C, Pedersen SE, [et al]. Asthma. *Lancet*, 391:10122, pp. 783–800, 2018
- (24) Patel SJ, Teach SJ. Asthma. *Pediatr Rev.*, 40:11, pp. 549–565, 2019
- (25) Yamauchi K, Ogasawara M. The role of histamine in the pathophysiology of asthma and the clinical efficacy of antihistamines in asthma therapy. *Int J Mol Sci.*, 20:7, pp. 1781, 2019
- (26) Church MK. Allergy, Histamine and Antihistamines. *Handb Exp Pharmacol.*, vol. 241, pp. 221–231, 2017
- (27) Yang TLB, Kim BS. Pruritus in allergy and immunology. *J Allergy Clin Immunol.*, 144:2, pp. 353–360, 2019
- (28) Engevik AC, Kaji I, Goldenring JR. The physiology of the gastric parietal cell. *Physiol Rev.*, 100:2, pp. 573–602, 2020
- (29) Duc NM, Kim HR, Chung KY. Structural mechanism of G protein activation by G protein-coupled receptor. *Eur J Pharmacol.*, vol. 763, pp. 214-222, 2015

- (30) Panula P, Chazot PL, Cowart M, [et al]. International union of basic and clinical pharmacology. XCVIII. Histamine receptors. *Pharmacol Rev.* 67:3, pp. 601–655, 2015
- (31) Walter M, Stark H. Histamine receptor subtypes: a century of rational drug design. *Front Biosci (Schol Ed)*, S4:4, pp. 461–488, 2012
- (32) Söldner CA, Horn AHC, Sticht H. Binding of histamine to the H1 receptor—a molecular dynamics study. *J Mol Model*, 24:12, pp. 346, 2018
- (33) Lieberman P. The basics of histamine biology. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 106:2 Suppl, S2-S5, 2011
- (34) Simons FER, Simons KJ. Histamine and H1-antihistamines: Celebrating a century of progress. *J Allergy Clin Immunol*, 128:6, pp. 1139-1150, 2011
- (35) Jawad A, Kaushal R, Sohail M, Yaqoob A. Histamine receptors as drug target: Current and future therapeutics. *JSTMU*, 2:1, pp. 31-35, 2019
- (36) Cooke MR, Giovannitti JA. Histamine and Histamine Antagonists. In Dowd F, Johnson B, Mariotti A. *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry*. 7ª Edição. Mosby Elsevier. ISBN 978-0-323-39307-2, pp. 276-286, 2017
- (37) Koch A, Cascorbi I, Westhofen M, [et al]. The Neurophysiology and Treatment of Motion Sickness. *Dtsch Arztebl Int*, 115:41, pp. 687-696, 2018
- (38) Altamura AC, Moliterno D, Paletta S, [et al]. Understanding the pharmacokinetics of anxiolytic drugs. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 9:4, pp. 423-440, 2013
- (39) Yanai K, Yoshikawa T, Yanai A, [et al]. The clinical pharmacology of non-sedating antihistamines. *Pharmacol Ther.*, vol. 178, pp. 148-156, 2017
- (40) Sánchez-Borges M, Ansotegui, IJ. Second generation antihistamines: An update. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.*, 19:4, pp. 358-364, 2019
- (41) Criado PR, Criado RFJ, Maruta CW. Histamine, histamine receptors and antihistamines: new concepts. *An Bras Dermatol.*, 85:2, pp. 195-210, 2010
- (42) Tiligada E, Kyriakidis K, Passani MB, [et al]. Histamine pharmacology and new CNS drug targets. *CNS Neurosci Ther.*, 17:6, pp. 620-628, 2011
- (43) Nieto-Alamilla G, Márquez-Gómez R, García-Gálvez AM. The histamine H3 receptor: Structure, pharmacology, and function. *Mol Pharmacol.*, 90:5, pp. 649-673, 2016
- (44) Hu W, Chen Z. The roles of histamine and its receptor ligands in central nervous system disorders: An update. *Pharmacol Ther.*, vol. 175, pp. 116–132, 2017

- (45) Golpich M, Amini E, Hemmati F, [et al]. Glycogen synthase kinase-3 beta (GSK-3 $\beta$ ) signaling: Implications for Parkinson's disease. *Pharmacol Res.*, vol. 97, pp. 16-26, 2015
- (46) Bongers G, Bakker RA, Leurs R. Molecular aspects of the histamine H3 receptor. *Biochem Pharmacol.*, 73:8, pp. 1195-1204, 2007
- (47) Kim EK, Choi Eui-Ju. Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochim Biophys Acta.*, 1802:4, pp. 396-405, 2010
- (48) Corrêa MF, Fernandes JPDS. Histamine H4 receptor ligands: Future applications and state of art. *Chem Biol Drug Des.*, 85:4, pp. 461-480, 2015
- (49) Thurmond RL. The histamine H4 receptor: from orphan to the clinic. *Front Pharmacol.*, vol. 6, pp. 1-12, 2015
- (50) Khanfar MA, Affini A, Lutsenko K, [et al]. Multiple targeting approaches on histamine H3 receptor antagonists. *Front Neurosci.*, vol. 10, pp. 201, 2016
- (51) Yu F, Bonaventure P, Thurmond RL. The future antihistamines: Histamine H3 and H4 receptor ligands. *Adv Exp Med Biol.*, vol.709, pp. 125-140, 2010
- (52) Gemkow MJ, Davenport AJ, Harich S, [et al]. The histamine H3 receptor as a therapeutic drug target for CNS disorders. *Drug Discov Today*, 14:9-10, pp. 509-515, 2009
- (53) Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. Pharmacology, Elsevier Inc., 7ª edição, ISBN: 978-85-352-5987-7, pp. 6-15, 2012
- (54) Celanire S, Wijtmans M, Talaga P, [et al]. Keynote review: Histamine H3 receptor antagonists reach out for the clinic. *Drug Discov Today*, 10:23-24, pp. 1613-1627, 2005
- (55) Szczepanska K, Kuder K, Kiec-Kononowicz K. Histamine H3 Receptor Ligands in the Group of (Homo)piperazine Derivatives. *Curr Med Chem.*, 25:14, pp. 1609-1626, 2017
- (56) Espinosa-Bustos C, Frank A, Arancibia-Opazo S, [et al]. New lead elements for histamine H 3 receptor ligands in the pyrrolo[2,3-d]pyrimidine class. *Bioorg Med Chem Lett*, 28:17, pp. 2890-2893, 2018
- (57) Sander K, Kottke T, Stark H. Histamine H3 receptor antagonists go to clinics. *Biol Pharm Bull*, 31:12, pp. 2163-2181, 2008
- (58) Thorpy MJ. Recently Approved and Upcoming Treatments for Narcolepsy. *CNS Drugs*, 34:1, pp. 9-27, 2020

- (59) Lamb YN, Pitolisant: A Review in Narcolepsy with or without Cataplexy. *CNS Drugs*, 34:2, pp. 207-218, 2020
- (60) Bassetti C, Adamantidis A, Burdakov D, [et al]. Narcolepsy — clinical spectrum, aetiopathophysiology, diagnosis and treatment. *Nat Rev Neurol.*, 15:9, pp. 519-539, 2019
- (61) Harwell V, Fasinu P. Pitolisant and Other Histamine-3 Receptor Antagonists—An Update on Therapeutic Potentials and Clinical Prospects. *Medicines (Basel)*, 7:9, pp. 55, 2020
- (62) Romigi A, Vitrani G, Giudice T, [et al]. Profile of pitolisant in the management of narcolepsy: Design, development, and place in therapy. *Drug Des Devel Ther.*, vol.12, pp. 2665-2675, 2018
- (63) Walker NA, Sunderram J, Zhang P, [et al]. Clinical utility of the Epworth sleepiness scale. *Sleep Breath.*, 24:4, pp. 1759- 1765, 2020
- (64) Dauvilliers Y, Arnulf I, Szakacs Z, [et al]. Long-term use of pitolisant to treat patients with narcolepsy: Harmony III Study. *Sleep.*, 42:11, pp. 1-22, 2019
- (65) Szakacs Z, Dauvilliers Y, Mikhaylov V, [et al]. Safety and efficacy of pitolisant on cataplexy in patients with narcolepsy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.*, 16:3, pp. 200-207, 2017
- (66) Högler W, Ward LM. New developments in the management of narcolepsy. *Nat Sci Sleep.*, vol.9, pp. 39-57, 2017
- (67) Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer’s Disease: Causes and Treatment. *Molecules.*, 25:24, pp. 5789, 2020
- (68) Bajda M, Łażewska D, Godyń J, [et al]. Search for new multi-target compounds against Alzheimer's disease among histamine H3 receptor ligands. *Eur J Med Chem.*, vol. 185, pp. 111785, 2020
- (69) Stanciu GD, Luca A, Rusu RN, [et al]. Alzheimer’s disease pharmacotherapy in relation to cholinergic system involvement. *Biomolecules.*, 10:1, pp. 40, 2019
- (70) Abeysinghe A, Deshapriya R, Udawatte C. Alzheimer's disease; a review of the pathophysiological basis and therapeutic interventions. *Life Sci.*, vol. 256, pp. 117996, 2020
- (71) Vaz M, Silvestre S. Alzheimer's disease: Recent treatment strategies. *Eur J Pharmacol.*, vol. 887, pp. 173554, 2020

- (72) Esbenshade TA, Browman KE, Miller TR, [et al]. Pharmacological properties and procognitive effects of ABT-288, a potent and selective histamine H<sub>3</sub> receptor antagonist. *J Pharmacol Exp Ther.*, 343:1, pp. 233-245, 2012
- (73) Haig GM, Pritchett Y, Meier A, [et al]. A randomized study of H<sub>3</sub> antagonist ABT-288 in mild-to-moderate Alzheimer's dementia. *J Alzheimers Dis.*, 42:3, pp. 959-971, 2014
- (74) Medhurst AD, Atkins AR, Beresford IJ, [et al]. GSK189254, a novel H<sub>3</sub> receptor antagonist that binds to histamine H<sub>3</sub> receptors in Alzheimer's disease brain and improves cognitive performance in preclinical models. *J Pharmacol Exp Ther.*, 321:3, pp. 1032-1045, 2007
- (75) Ashworth S, Berges A, Rabiner EA, [et al]. Unexpectedly high affinity of a novel histamine H(3) receptor antagonist, GSK239512, in vivo in human brain, determined using PET. *Br J Pharmacol.*, 171:5, pp. 1241-1249, 2014
- (76) Nathan PJ, Boardley R, Scott N, [et al]. The safety, tolerability, pharmacokinetics and cognitive effects of GSK239512, a selective histamine H<sub>3</sub> receptor antagonist in patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a preliminary investigation. *Curr Alzheimer Res.*, 10:3, pp. 240-251, 2013
- (77) Egan M, Yaari R, Liu L, [et al]. Pilot randomized controlled study of a histamine receptor inverse agonist in the symptomatic treatment of AD. *Curr Alzheimer Res.*, 9:4, pp. 481-490, 2012
- (78) Cho W, Maruff P, Connell J, [et al]. Additive effects of a cholinesterase inhibitor and a histamine inverse agonist on scopolamine deficits in humans. *Psychopharmacology (Berl.)*, 218:3, pp. 513-524, 2011
- (79) Chen WN, Yeong KY. Scopolamine, a Toxin-Induced Experimental Model, Used for Research in Alzheimer's Disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 19:2, pp. 85-93, 2020
- (80) Panayi F, Sors A, Bert L, [et al]. In vivo pharmacological profile of S 38093, a novel histamine H<sub>3</sub> receptor inverse agonist. *Eur J Pharmacol.*, vol. 803, pp. 1-10, 2017
- (81) Griebel G, Pichat P, Pruniaux MP, [et al]. SAR110894, a potent histamine H<sub>3</sub>-receptor antagonist, displays procognitive effects in rodents. *Pharmacol Biochem Behav.*, 102:2, pp. 203-214, 2012
- (82) Delay-Goyet P, Blanchard V, Schussler N, [et al]. SAR110894, a potent histamine H<sub>3</sub>-receptor antagonist, displays disease-modifying activity in a

- transgenic mouse model of tauopathy. *Alzheimers Dement (NY)*, 2:4, pp. 267-280, 2016
- (83) American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DSM-5™, 2013
- (84) Ropper AH, Marder SR, Cannon TD. Schizophrenia. *N Engl J Med.*, 381:18, pp. 1753-1761, 2019
- (85) Stilo SA, Murray RM. Non-Genetic Factors in Schizophrenia. *Curr Psychiatry Rep.*, 21:10, pp. 100, 2019
- (86) Queirós T, Coelho F, Linhares L, [et al]. Esquizofrenia: O Que o Médico Não Psiquiatra Precisa de Saber. *Acta Med Port.*, 32:1, pp. 70-77, 2019
- (87) Haig GM, Bain E, Robieson W, [et al]. A randomized trial of the efficacy and safety of the H3 antagonist ABT-288 in cognitive impairment associated with schizophrenia. *Schizophr Bull.*, 40:6, pp. 1433-1442, 2014
- (88) Jarskog LF, Lowy MT, Grove RA, [et al]. A Phase II study of a histamine H3 receptor antagonist GSK239512 for cognitive impairment in stable schizophrenia subjects on antipsychotic therapy. *Schizophr Res.*, 164:1-3, pp. 136-142, 2015
- (89) Egan MF, Zhao X, Gottwald R, [et al]. Randomized crossover study of the histamine H3 inverse agonist MK-0249 for the treatment of cognitive impairment in patients with schizophrenia. *Schizophr Res.*, 146:1-3, pp. 224-230, 2013
- (90) Wager TT, Pettersen BA, Schmidt AW, [et al]. Discovery of two clinical histamine H(3) receptor antagonists: trans-N-ethyl-3-fluoro-3-[3-fluoro-4-(pyrrolidinylmethyl)phenyl]cyclobutanecarboxamide (PF-03654746) and trans-3-fluoro-3-[3-fluoro-4-(pyrrolidin-1-ylmethyl)phenyl]-N-(2-methylpropyl)cyclobutanecarboxamide (PF-03654764). *J Med Chem.* 54:21, pp. 7602-7620, 2011
- (91) Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos (*U.S. National Library of Medicine*). Add on Treatment for Cognitive Deficits in Schizophrenia. 2011. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01346163?term=PF-03654746> (acedido a 27 de setembro de 2021)
- (92) Cortese S, Coghill D. Twenty years of research on attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): Looking back, looking forward. *Evid Based Ment Health*, 21:4, pp. 173-176, 2018



- (93) Caye A, Swanson JM, Coghill D, [et al]. Treatment strategies for ADHD: an evidence-based guide to select optimal treatment. *Mol Psychiatry*, 24:3, pp. 390-408, 2019
- (94) Efron D. CHAPTER 1: Attention Deficit Hyperactivity Disorder: An Overview. In Hiscock H, Sciberras E. Sleep and ADHD: An Evidence-Based Guide to Assessment and Treatment. 1ª Edição, Elsevier Inc.. ISBN 978-0-12-814180-9, pp. 1-29, 2019
- (95) Banaschewski T, Becker K, Döpfner M, [et al]. Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Dtsch Arztebl Int.*, 114:9, pp. 149-159, 2017
- (96) Cortese S. Pharmacologic Treatment of Attention Deficit-Hyperactivity Disorder. *N Engl J Med*. 383:11, pp. 1050-1056. 2020
- (97) Aggarwal S, Mortensen OV. Overview of Monoamine Transporters. *Curr Protoc Pharmacol.*, 79:12, pp. 12.16.1-12.16.17, 2017
- (98) Pozzi M, Bertella S, Gatti E, [et al]. Emerging drugs for the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Expert Opin Emerg Drugs.*, 25:4, pp. 395-407, 2020
- (99) Loureiro-Vieira S, Costa VM, Bastos ML, [et al]. Methylphenidate effects in the young brain: friend or foe?. *Int J Dev Neurosci.*, vol. 60, pp. 34-47, 2017
- (100) Berlin M, Boyce CW, Ruiz ML. Histamine H3 receptor as a drug discovery target. *J Med Chem.*, 54:1, pp. 26-53, 2011
- (101) Letavic MA, Aluisio L, Apodaca R, [et al]. Novel benzamide-based histamine h3 receptor antagonists: the identification of two candidates for clinical development. *ACS Med Chem Lett.*, 6:4, pp. 450-454, 2015
- (102) Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos (*U.S. National Library of Medicine*). A Study to Evaluate Pharmacokinetics, Safety and Tolerability After a Single Dose Administration of of JNJ-31001074 in Children (6-11 Years) With Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD), 2010. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00890240> (acedido a 28 de setembro de 2021)
- (103) Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos (*U.S. National Library of Medicine*). A Study to Evaluate Pharmacokinetics, Safety and Tolerability After a Single Dose Administration of JNJ-31001074 in Pediatric Patients (12-17 Years) With Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD), 2010.

- Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00890292> (acedido a 28 de setembro de 2021)
- (104) Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos (*U.S. National Library of Medicine*). A Safety and Effectiveness Study of JNJ-31001074 in Adults With Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder, 2014. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00566449> (acedido a 28 de setembro de 2021)
- (105) Weisler RH, Pandina GJ, Daly EJ, [et al]. Randomized clinical study of a histamine H3 receptor antagonist for the treatment of adults with attention-deficit hyperactivity disorder. *CNS Drugs*, 26:5, pp. 421-434, 2012
- (106) Herring WJ, Wilens TE, Adler LA, [et al]. Randomized controlled study of the histamine H3 inverse agonist MK-0249 in adult attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Clin Psychiatry.*, 73:7, pp. e891-898, 2012
- (107) Organização Mundial de Saúde (*World Health Organization*). Obesity and overweight, 2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (acedido a 30 de setembro de 2021 pelas 12:22h)
- (108) Nimptsch K, Konigorski S, Pischon T. Diagnosis of obesity and use of obesity biomarkers in science and clinical medicine. *Metabolism.*, vol. 92, pp. 61-70, 2019
- (109) Ritchie H, Roser M. Obesity, 2017. Disponível em: <https://ourworldindata.org/obesity> (acedido a 2 de outubro de 2021 pelas 12:52h)
- (110) Elagizi A, Kachur S, Carbone S, [et al]. A Review of Obesity, Physical Activity, and Cardiovascular Disease. *Curr Obes Rep.*, 9:4, pp. 571-581, 2020
- (111) Bray GA, Frühbeck G, Ryan DH, [et al]. Management of obesity. *Lancet.*, 387:10031, pp. 1947-1956, 2016
- (112) Saunders KH, Umashanker D, Igel LI, [et al]. Obesity Pharmacotherapy. *Med Clin North Am.*, 102:1, pp. 135-148, 2018
- (113) Lin CH, Shao L, Zhang YM, [et al]. An evaluation of liraglutide including its efficacy and safety for the treatment of obesity. *Expert Opin Pharmacother.*, 21:3, pp. 275-285, 2020
- (114) Mika K, Szafarz M, Bednarski M, [et al]. Metabolic benefits of novel histamine H3 receptor ligands in the model of excessive eating: The importance of intrinsic

- activity and pharmacokinetic properties. *Biomed Pharmacother.*, 142:111952, pp. 1-13, 2021
- (115) Jørgensen EA, Knigge U, Warberg J, [et al]. Histamine and the regulation of body weight. *Neuroendocrinology.*, 86:3, pp. 210-214, 2007
- (116) Provensi G, Blandina P, Passani MB. The histaminergic system as a target for the prevention of obesity and metabolic syndrome. *Neuropharmacology.*, vol. 106, pp. 3-12, 2016
- (117) Kotańska M, Mika K, Reguła K, [et al]. KSK19 - Novel histamine H3 receptor ligand reduces body weight in diet induced obese mice. *Biochem Pharmacol.*, vol. 168, pp. 193-203, 2019
- (118) Kotańska M, Kuder KJ, Szczepańska K, [et al]. The histamine H3 receptor inverse agonist pitolisant reduces body weight in obese mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.*, 391:8, pp. 875-881, 2018
- (119) Lian J, Huang XF, Pai N, [et al]. Ameliorating antipsychotic-induced weight gain by betahistine: Mechanisms and clinical implications. *Pharmacol Res.*, vol. 106, pp. 51-63, 2016
- (120) Lian J, Huang XF, Pai N, [et al]. Preventing olanzapine-induced weight gain using betahistine: a study in a rat model with chronic olanzapine treatment. *PLoS One.* 9:8, e104160, 2014
- (121) Sharma P, Srivastava P, Seth A, [et al]. Comprehensive review of mechanisms of pathogenesis involved in Alzheimer's disease and potential therapeutic strategies. *Prog Neurobiol.*, vol. 174, pp. 53-89, 2019