



UAAlg

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Ciências e Tecnologia

**Novas abordagens no desenvolvimento de
fármacos modificadores da Doença de Alzheimer**

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Diana Sofia dos Santos Simões

Trabalho efetuado sob orientação do Professor Doutor João Rocha

2015

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Ciências e Tecnologia

**Novas abordagens no desenvolvimento de
fármacos modificadores da Doença de Alzheimer**

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Diana Sofia dos Santos Simões

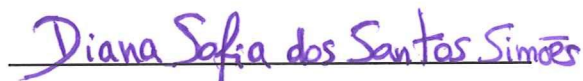
Trabalho efetuado sob orientação do Professor Doutor João Rocha

2015

Novas abordagens no desenvolvimento de fármacos modificadores da Doença de Alzheimer

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.



Diana Sofia dos Santos Simões

Copyright © 2015 Diana Sofia dos Santos Simões

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.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original”

Albert Einstein

Agradecimentos

A elaboração desta tese, assim como todo o percurso académico que a antecedeu, só foi possível graças à colaboração e contributo de várias pessoas, às quais gostaria de exprimir algumas palavras de agradecimento e reconhecimento.

Em primeiro lugar ao professor doutor João Rocha pela dedicação, orientação e disponibilidade apresentada na elaboração desta tese.

A toda a equipa da farmácia do Hospital da Luz e da farmácia Caniné por todos os conhecimentos transmitidos e por toda a disponibilidade e dedicação apresentadas de forma a proporcionar-me uma aprendizagem a mais completa possível durante o meu estágio.

A todos os meus amigos pela amizade, ajuda, compreensão, companheirismo e momentos de diversão passados juntos ao longo do curso.

A toda a minha família, ao meu irmão e principalmente aos meus pais pelo esforço e sacrifício que fizeram para que concluísse este curso e assim me proporcionarem um futuro melhor, sem eles nada disto sido possível.

E por fim ao meu namorado pela paciência e compreensão que demonstrou nos momentos mais difíceis e pelo apoio e força transmitida que me ajudou na conclusão desta tese.

A todos, o meu muito obrigada!

Resumo

A doença de Alzheimer é a doença neurodegenerativa mais comum, afeta 25 milhões de pessoas em todo o mundo, o que corresponde a cerca de 60-70% de todos os casos de demência. As principais características neuropatológicas são depósitos extracelulares de péptidos β -amilóide que formam placas amiloides, emaranhados neurofibrilares intracelulares de tau hiperfosforilada no cérebro e perda de neurónios. As primeiras manifestações clínicas são perda progressiva da memória e deterioração das funções cognitivas.

Atualmente ainda não existe um mecanismo exato que explique a fisiopatologia da doença de Alzheimer, no entanto a cascata metabólica amiloide e a modificação pós-tradução da proteína tau são consideradas as hipóteses mais importantes. Outros mecanismos têm sido considerados como disfunção de neurotransmissores, a disfunção mitocondrial, o stress oxidativo, os fatores genéticos e ambientais.

Os tratamentos atuais disponíveis para a doença de Alzheimer não alteram a progressão da doença, estão limitados ao alívio dos sintomas cognitivos, comportamentais e psicológicos. Existem duas classes de fármacos aprovadas que são os inibidores da acetilcolinesterase e os antagonistas dos recetores de glutamato de N-metil-D-aspartato.

De momento ainda não existem fármacos modificadores da doença de Alzheimer disponíveis, mas no entanto muitos encontram-se em desenvolvimento em ensaios clínicos de fase III e destinam-se a modificar as etapas patológicas que conduzem à doença. As terapias modificadoras da doença em estudo têm como alvos principais a $A\beta$ e a proteína tau e também a inflamação e os danos oxidativos.

Os resultados obtidos nos ensaios clínicos realizados foram muito variáveis pelo que houve ensaios que não apresentaram resultados positivos, outros foram interrompidos devidos a reações adversas graves e outros apresentaram resultados inconsistentes. Por outro lado, alguns dos ensaios clínicos realizados obtiveram resultados positivos e promissores e ainda se encontram em estudo. Os resultados demonstram que ainda há um longo caminho a percorrer no desenvolvimento de fármacos modificadores da doença de Alzheimer mas no entanto os esforços a nível da investigação devem ser continuados de

forma a melhor compreender a fisiopatologia da doença e a encontrar um tratamento efetivo para a mesma.

Palavras chave: doença de alzheimer, β -amiloide, hiperfosforilação da tau, neurodegeneração

Abstrat

Alzheimer's disease is a common neurodegenerative disease, that affects 25 million people worldwide, corresponding to about 60-70% of all cases of dementia. The major neuropathological characteristics are extracellular deposits of amyloid-beta peptides forming amyloid plaques and the intracellular neurofibrillary tangles of hyperphosphorylated tau in the brain and loss of neurons. The first clinical signs are progressive loss of memory and deterioration of cognitive functions.

Currently there is no exact mechanism to explain the pathophysiology of AD, however amyloid metabolic cascade and post-translational modification of tau protein are considered the most important hypotheses. Other mechanisms have been considered as neurotransmitter dysfunction, mitochondrial dysfunction, oxidative stress, genetic and environmental factors.

Current treatments available for Alzheimer's disease do not change the progression of the disease is limited to the relief of cognitive symptoms, behavioral and psychological symptoms. There are two classes of approved drugs that are acetylcholinesterase inhibitors and antagonists of glutamate receptors of the N-methyl-D-aspartate.

At the moment there are no modifying drugs available Alzheimer's disease, however many are under development in phase III of clinical trials and are intended to modify pathological steps leading to disease. The disease modifying therapies under study have as principal targets A β and tau protein and also in inflammation and oxidative damage.

The results obtained in clinical trials were highly variable and there was trials did not show positive results, others have been discontinued due to serious adverse reactions and other showed inconsistent results. On the other hand, some of the clinical trials carried out were positive and promising results and are still under study. The results show that there is still a long way to go in developing modifying Alzheimer's drugs but nevertheless the research level efforts must be continued in order to better understand the pathophysiology of the disease and finding an effective treatment for the same. **Keywords:** alzheimer's disease, β -amyloid, tau hyperphosphorylation, neurodegeneration

Índice

Agradecimentos	v
Resumo	vi
Abstrat	viii
Índice de figuras	xi
Índice de tabelas	xiii
Lista de abreviaturas	xiv
1. Introdução.....	1
2. Epidemiologia da demência	3
3. Doença de Alzheimer	6
3.1. Manifestações clínicas	7
3.2. Fisiopatologia da doença	10
3.2.1. Hipótese da cascata amiloide.....	11
3.2.2. Modificação pós-tradução da proteína tau.....	14
3.2.3. Disfunção mitocondrial e stress oxidativo.....	17
3.2.4. Disfunção de neurotransmissores	18
4. Etiologia da doença de Alzheimer	24
4.1. Fatores de risco para o desenvolvimento de DA	24
4.1.1. Fatores de risco genéticos.....	24
4.1.2. Fatores de risco não genéticos	26
4.2. Fatores de proteção que reduzem o risco da DA	29
4.2.1. Educação.....	29
4.2.2. Dieta	30
4.2.3. Atividade física.....	30

5.	Tratamento farmacológico da Doença de Alzheimer.....	32
5.1.	Inibidores da acetilcolinesterase	33
5.2.	Antagonista do recetor de N-metil-D-aspartato.....	36
5.3.	Tratamentos dos sintomas não cognitivos	37
6.	Novas abordagens de fármacos modificadores da Doença de Alzheimer	40
6.1.	Abordagens direcionada para a β -amiloide	40
6.1.1	Terapêutica de redução da produção de $A\beta$	42
6.1.1.1.	Inibidores das enzimas secretases.....	43
6.1.1.2.	Ativadores da α - secretase	46
6.1.2.	Anti-agregantes.....	47
6.1.3.	Remoção de $A\beta$	49
6.2.	Abordagens direcionadas para a proteína tau	55
6.2.1.	Anti-agregantes da proteína tau.....	55
6.2.2.	Inibidores da hiperfosforilação da tau	56
6.1.	Abordagens anti-inflamatórias e neuroprotetoras.....	57
6.1.1.	Fármacos anti-inflamatórios não-esteróides.....	57
6.1.2.	Inibidores da HMG-CoA redutase.....	58
6.1.3.	Vitaminas e antioxidantes.....	59
7.	Conclusão.....	61
8.	Referências bibliográficas	63

Índice de figuras

Figura 1 - O crescimento do número de pessoas com demência (em milhões) em países de elevado rendimento (HIC) e de baixo e médio rendimento (LMIC).	4
Figura 2 - Curso natural da DA com a representação das várias fases da doença e as respetivas alterações neuropatológicas ao longo do tempo.	7
Figura 3 – Comparação de um cérebro saudável (esquerda) com um cérebro de um indivíduo com DA (direita). São visíveis as alterações neuropatológicas no cérebro do indivíduo com DA principalmente na zona responsável pela memória e linguagem.	8
Figura 4 – Comparação de um cérebro normal (esquerda) com um cérebro de um indivíduo com DA (Direita). É visível a atrofia cerebral, o alargamento dos sulcos cerebrais e os giros estreitos, bem como o alargamento dos ventrículos no cérebro do indivíduo com DA.	10
Figura 5 – Base molecular da hipótese da cascata amiloide. O processamento de PPA pode ocorrer através da via amiloidogénica através da atividade da β e γ - secretases ou através da via não amiloidogénica através da atividade da α -secretase. A via amiloidogénica é a via responsável pela produção de $A\beta$	12
Figura 6 – Comparação entre um neurónio saudável e um neurónio de um indivíduo com DA em que se verifica a desintegração dos microtúbulos com conseqüente formação de ENF.....	16
Figura 7 – Esquema de possíveis causas e conseqüências do stress oxidativo que conduzem à neurodegeneração e conseqüentemente à DA.	18
Figura 8 – Resumo da via de síntese da acetilcolina e do funcionamento dos IChE. 19	
Figura 9 - Esquema do ciclo normal do glutamato. Está representado o armazenamento do glutamato em vesículas, a sua libertação para a fenda sináptica, a sua mediação na transmissão sináptica e a sua eliminação nos astrócitos.	21
Figura 10 - Esquema representativo da transmissão mediada pelo glutamato na sinapse na DA. Os oligómeros de $A\beta$ interferem com a sinalização dos recetores NMDA e com a eliminação do glutamato provocando excitotoxicidade e morte neuronal.	22

Figura 11 - As estratégias de fármacos modificadores da DA com base na hipótese da cascata amiloide. O processamento da PPA e a produção, agregação e degradação de A β estão representados e os potenciais alvos terapêuticos estão indicados com setas e com letras. 42

Índice de tabelas

Tabela 1 – Estimativas da população total em milhões acima dos 60 anos de idade em 2010, da prevalência de demência em percentagem em 2010, da população com demência em milhões nos anos de 2010, 2030 e 2050 e dos aumentos proporcionais de demência em percentagem entre os anos de 2010-2030 e 2010-2050 na Ásia, Europa, América, África e no Mundo.....	4
Tabela 2 - Fatores que modificam o risco da doença de Alzheimer.....	26
Tabela 3 – Comparação entre os fármacos IChE e o antagonista dos recetores de NMDA a nível da fase da doença, dose inicial e de manutenção, tempo de semi-vida, ligação às proteínas plasmáticas, tipo de metabolização e eliminação e efeitos secundários.	32
Tabela 4 – Fármacos utilizados para o alívio dos sintomas neuropsiquiátricos ou comportamentais observados em fases avançadas da DA. As classes de fármacos mais frequentemente utilizadas são os antipsicóticos, anticonvulsivantes, antidepressivos e benzodiazepinas.....	38
Tabela 5 – Estado atual do desenvolvimento clínico de alguns fármacos modificadores da doença para o tratamento da DA.....	41

Lista de abreviaturas

A β – Péptido β -amiloide

A β ₄₀ – Péptido β -amiloide com 40 aminoácidos

A β ₄₂ – Péptido β -amiloide com 42 aminoácidos

ACh - Acetilcolina

AICD - Fragmento de domínio intracelular de PPA

AINES – Anti-inflamatórios não esteroides

AMPA – Recetor de *amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato*

APH-1 - *Anterior pharynx-defective 1*

ApoE – Apolipoproteína E

ATP – Adenosina trifosfato

AVC - Acidente vascular cerebral

BACE1- Local β da enzima 1 de clivagem da PPA

BuChE - Butirilcolinesterase

BHE – Barreira hematoencefálica

CaMK - *Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase*

CDK5 – *Cyclin-dependent Kinase 5*

ChAT - Enzima colina acetiltransferase

CLU – *Clusterin*

CMT - Cloreto de metiltionina

COX I - Ciclo-oxigenase I

COX II – Ciclo-oxigenase II

CR1 – *Complement receptor 1*

CREB - *cAMP response element-binding protein*

DA – Doença de Alzheimer

DM II – Diabetes mellitus do tipo II

EAAT - Transportadores de aminoácidos excitatórios

EMA - Agência Europeia do Medicamento

ENF – Emaranhados neurofibrilares

ERK2 – *Extracellular signal-regulated kinase 2*

FDA - *Food and Drug Administration*

GAG - Glicosaminoglicanos

GSK3 β - *Glycogen synthase kinase 3 beta*

GWA - Estudos de associação de genoma
HACU - Transportador de colina de elevada afinidade
HIC – Países de elevado rendimento
HMG-CoA redutase - *3-hidroxi-3-methyl-glutaril-CoA redutase*
IAChE – Inibidores da acetilcolinesterase
IDE – Enzima degradante da insulina
iGluR - Recetor ionotrópico do glutamato
IgM - imunoglobulina M
IM – Intramuscular
IVIg - imunoglobulina intravenosa humana
LCR - Líquido cefalorraquidiano
LMIC - Países de baixo e médio rendimento
LP – Libertação prolongada
LRP-1- recetor de lipoproteína de baixa densidade
LTD - Depressão de longa duração
LTP - Potenciação de longa duração
mAChR - Recetor muscarínico da acetilcolina
mGluR - Recetor metabotrópicos do glutamato
nAChR - Recetor nicotínicos da acetilcolina
NEP - Neprilisina (NEP)
NMDA – Recetor de glutamato N-metil-D-aspartato
NO – Monóxido de azoto
MAP - Proteínas associadas aos microtúbulos
MAPK - *Mitogen-activated protein kinases*
MCI - Comprometimento cognitivo leve
MMSE - Exame do Estado Mini-Mental
PICALM - *Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein*
PP2A- Proteína fosfatase – 2A
PPA – Proteína precursora da amiloide
PSEN1 – Presenilina 1
PSEN2 – Presenilina 2
PUFA – Ácidos gordo polinsaturado
RAGE – Recetor para produtos finais de glicação avançada
ROS – *Reactive oxygen species*

RNS - *Reactive nitrogen species*

SNC – Sistema nervoso central

sPPA α – Fragmento solúvel de PPA processado pela via α

sPPA β – Fragmento insolúvel de PPA processado pela via β

ST – Sistema transdérmico

VGLUT - Transportadores vesiculares de glutamato

1. Introdução

As doenças neurodegenerativas são doenças que afetam o sistema nervoso central (SNC) provocando a progressiva degeneração e morte neuronal em determinadas regiões do cérebro. Estas doenças são incuráveis e bastante debilitantes dado que os neurónios são células nervosas que não têm a capacidade de se autorrenovarem e assim a sua danificação ou morte provoca graves lesões a nível cerebral. (1)

Existem várias doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer (DA), a doença de Parkinson, a Esclerose Múltipla, a doença de Corpos de Lewy, entre outras. (2)

A DA é a doença neurodegenerativa mais comum afetando cerca de 25 milhões de pessoas em todo o mundo, o que corresponde a cerca de 60-70% de todos os casos de demência. Prevê-se que estes valores tripliquem até 2050. (3)

Segundo o padrão geral de evolução da DA esta pode ser classificada em 4 fases que são a pré-clínica, leve, moderada e grave, sendo que cada uma das fases apresenta alterações neuropatológicas e sintomas específicos. (4)

As principais alterações neuropatológicas da DA são a atrofia cerebral, a presença de placas senis cerebrais que contêm depósitos extracelulares do péptido β -amiloide ($A\beta$), emaranhados neurofibrilares (ENF) intraneuronais contendo a proteína tau hiperfosforilada, e perda de células neuronais. Estas alterações neuropatológicas manifestam-se com a perda progressiva da memória e das funções cognitivas (dificuldade de raciocínio, desorientação e dificuldades em expressar-se). (5,6)

Atualmente ainda não existe um mecanismo exato que explique a fisiopatologia da DA, no entanto a cascata metabólica amiloide e a modificação pós-tradução da proteína tau são consideradas as hipóteses mais importantes. Outros mecanismos têm sido considerados como disfunção de neurotransmissores, a disfunção mitocondrial, o stress oxidativo, os fatores genéticos e ambientais. (7)

Os fatores de risco de DA de origem genética incluem mutações em determinados genes que interferem na síntese e metabolismo de $A\beta$ aumentando-o, como é o caso da proteína precursora da amiloide (PPA), das presenilinas 1 e 2 (PSEN1, PSEN2) e da apolipoproteína E (ApoE). (2)

Dentro dos fatores de risco ambientais temos as doenças cerebrovasculares e cardiovasculares como a hipertensão arterial, a hipercolesterolemia e diabetes.(4)

O nível de educação elevada, uma dieta saudável e a prática de atividade física regular são considerados fatores de proteção, que diminuem o risco de desenvolver DA.(7)

Os tratamentos atuais disponíveis para a DA não alteram a progressão da doença, estão limitados ao alívio dos sintomas cognitivos, comportamentais e psicológicos. (3)

As duas classes de fármacos aprovadas para o tratamento da DA são: os inibidores da acetilcolinesterase (IACHÉ) e o antagonista do recetor de glutamato de N-metil-D-aspartato (NMDA). Os IACHÉ são os fármacos utilizados como tratamento de primeira linha para DA e são o donepezilo, a rivastigmina e a galantamina. Numa fase mais avançada da doença é utilizada a memantina que é o único antagonista não-competitivo do recetor NMDA aprovado no tratamento da DA. De forma a tratar os sintomas comportamentais da doença também são utilizados em simultâneo antipsicóticos, antidepressivos e benzodiazepinas. (3)

De momento ainda não existem fármacos modificadores da DA disponíveis, mas muitos encontram-se em desenvolvimento em ensaios clínicos de fase III e destinam-se a modificar as etapas patológicas que conduzem à doença. (8)

As terapias modificadoras da doença em estudo têm como alvos principais a A β e a proteína tau e também da inflamação e dos danos oxidativos. (7)

Relativamente à terapia direcionada para a A β estão em desenvolvimento fármacos que atuam a nível da produção, agregação e remoção de A β . Estes são os inibidores das secretases (β e γ), os ativadores da α -secretase, os inibidores da agregação de A β e a imunoterapia. (9)

Relativamente à terapia direcionada para a proteína tau estão em desenvolvimento anti-agregantes da proteína tau e inibidores da hiperfosforilação da proteína tau. (9)

Outras abordagens anti-inflamatórias e neuroprotetoras têm sido estudadas para o tratamento da doença como os fármacos anti-inflamatórios não esteroides (AINES), os inibidores da *3-hidroxi-3-methyl-glutaril-CoA redutase* (HMG-CoA redutase) e as vitaminas e antioxidantes. (9)

2. Epidemiologia da demência

O crescente envelhecimento da população a nível mundial ao longo do último século é um processo que demonstra o sucesso dos cuidados de saúde (diminuição da taxa de mortalidade e consequente aumento da esperança média de vida) mas no entanto tem trazido grandes consequências a nível económico, político e social. (10,11)

Um dos efeitos negativos do envelhecimento é o aumento das doenças neurodegenerativas relacionadas com a idade, mais tipicamente a DA, o que resultará num aumento significativo do número de pessoas com demência e declínio cognitivo relacionado, tanto em termos de extensão como de distribuição global, tornando este um problema de saúde pública a nível mundial. (5)

Estima-se que em 2050, 22% (dois biliões de pessoas) da população mundial seja constituída por pessoas com idade superior a 65 anos, 80% dos quais procedentes da Ásia, África ou América Latina. Assim sendo, verifica-se que a população está a envelhecer de forma rápida nos países de baixo e médio rendimento (LMIC). (11,13)

Embora a demência afete principalmente os idosos, de acordo com várias estimativas, verificou-se que entre 2% a 10% de todos os casos de demência começaram antes dos 65 anos. Depois dos 65 anos a prevalência dobra em cada intervalo de 5 anos.(13)

Em 2010, estimava-se que haviam 35,6 milhões de pessoas com demência em todo o mundo. Prevê-se que o número de pessoas que vivem com demência irá quase duplicar a cada 20 anos atingindo os 65,7 milhões em 2030 e os 115,4 milhões em 2050 (Tabela1). Este aumento deve-se principalmente ao aumento do número de pessoas com demência nos LMIC. Em 2010, 57,7% das pessoas com demência viviam nestes países e estima-se que aumente para 63,4% em 2030 e para 70,5% em 2050 (Figura 1). (10)

A prevalência global da demência em 2010 foi estimada em 4,7% em todo o mundo, com uma prevalência regional de 2,6% na África, 4,0% na Ásia, 6,2% na Europa e 6,9% na América do Norte. Verificou-se também que a prevalência no sexo masculino foi inferior ao sexo feminino, entre 19 a 29%. (10)

A taxa de aumento entre 2010-2030 mostrou uma ampla variação regional, com o número de pessoas afetadas crescendo mais rapidamente em regiões em

desenvolvimento: em 40% na Europa, 63% na América do Norte, entre 77% e 146% nas diferentes regiões da América Latina, em 107% na Ásia e 111% para a África. (11)

Tabela 1 – Estimativas da população total em milhões acima dos 60 anos de idade em 2010, da prevalência de demência em percentagem em 2010, da população com demência em milhões nos anos de 2010, 2030 e 2050 e dos aumentos proporcionais de demência em percentagem entre os anos de 2010-2030 e 2010-2050 na Ásia, Europa, América, África e no Mundo. Adaptado de (10)

	População > 60 anos	Prevalência	População com demência			Aumento proporcional	
	(milhões)	(%)	(milhões)	(milhões)	(milhões)	(%)	(%)
	2010	2010	2010	2030	2050	2010-2030	2010-2050
Ásia	406,6	3,9	15,9	33,0	60,9	107,0	282,0
Europa	160,2	6,2	10,0	14,0	18,7	40,0	87,0
América	120,7	6,5	7,8	14,8	27,1	89,0	246,0
África	71,1	2,6	1,9	3,9	8,7	111,0	370,0
Mundo	758,5	4,7	35,6	65,7	115,4	85,0	225,0

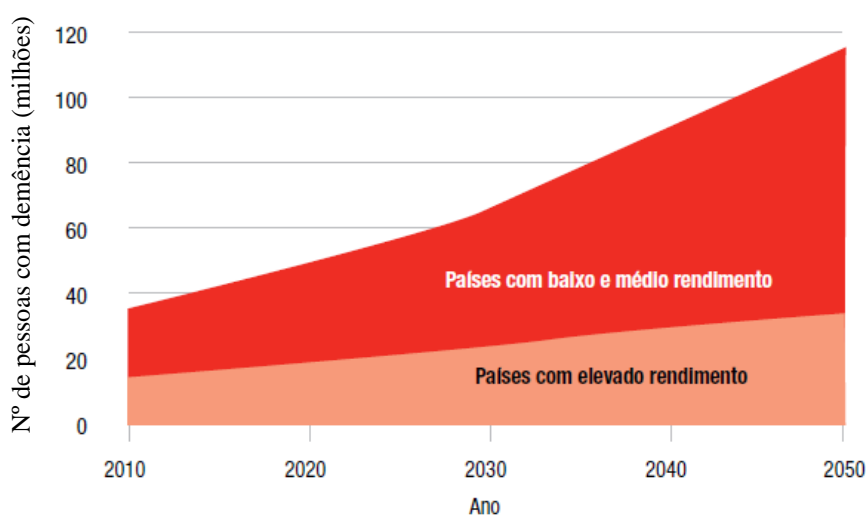


Figura 1 - O crescimento do número de pessoas com demência (em milhões) em países de elevado rendimento (HIC) e de baixo e médio rendimento (LMIC). Adaptado de (10)

Relativamente à incidência, a estimativa atual é de 7,7 milhões de novos casos por ano no mundo, o que equivale a um novo caso a cada 4 segundos. Cerca de 3,6 milhões (46%) destes novos casos teriam impacto na Ásia, 2,3 milhões (31%) na Europa, 1,2 milhões (16%) nas Américas, e 0,5 milhões (7%) em África. A prevalência (35,6 milhões) é cerca de 4,6 vezes a incidência anual, o que sugere uma duração média da doença (desde o início até à morte) de 4,6 anos. (11)

A DA é o tipo de demência mais comum, afetando cerca de 25 milhões de pessoas em todo o mundo, o que corresponde a cerca de 60-70% de todos os casos de demência. (3)

Em Portugal estima-se que existam cerca de 153 mil pessoas com demência, das quais 90 mil são portadoras da DA. (14)

A DA e outras demências são a principal causa de incapacidade (dificuldade na execução de tarefas e atividades importantes) e dependência nos idosos, sendo que esta é cada vez mais sentida ao longo dos anos vividos e é determinante para a necessidade de cuidados. (10) Estes cuidados implicam custos financeiros insuportáveis para a maioria das famílias, para além de todo o desgaste físico e emocional. (13)

Em 2005, um grupo de investigação do Karolinska Institute da Suécia fez uma estimativa do custo mundial da demência. Estimou-se um custo de 315 biliões de dólares por ano, dos quais 227 biliões (72%) era financiado pelos HIC (130 biliões na Europa) e 88 biliões (28%) por LIMC. O custo anual por pessoa com demência varia entre 1.521 dólares nos países de baixo rendimento, até 4.588 dólares nos países de médio rendimento e 17.964 dólares em países de elevado rendimento. (10)

Prevê-se que o impacto socioeconómico da demência seja um desafio no futuro, pelo que de forma a diminuí-lo é necessário investir na investigação científica e adotar uma abordagem mais eficiente em relação aos sistemas de prestação de cuidados de saúde. (13)

3. Doença de Alzheimer

Em 1906, um psiquiatra e neuropatologista alemão chamado Alois Alzheimer diagnosticou o primeiro doente com DA. (15)

Alois Alzheimer, desde 1901 que observava uma doente de 51 anos que apresentava um comprometimento a nível cognitivo, de linguagem e comportamento, sofrendo de uma perda de memória a curto prazo e episódios de confusão mental.(3,15,16) Depois da sua morte, em abril de 1906, Alois Alzheimer realizou uma autópsia cerebral onde encontrou duas características anatomopatológicas: depósitos de placas neuríticas ou senis e emaranhados neurofibrilares (ENF). (3,15) Embora na época já fossem conhecidas uma variedade de condições neurológicas progressivas e fatais, nas quais se incluía a chamada de demência pré-senil, estes sintomas associados a um início precoce e à descoberta de Alois Alzheimer, fez desta uma doença única. (4)

Em 1907, Alzheimer publicou as suas descobertas em *Dementia Praecox*, descobertas essas que ainda hoje continuam a ser a base do diagnóstico da DA. (6,15)

Atualmente, a DA é considerada a doença neurodegenerativa relacionada com a idade mais comum que clinicamente se caracteriza pela perda progressiva da memória e deterioração das funções cognitivas.(6) Patologicamente, a DA caracteriza-se pela formação de placas amiloides e ENF no cérebro que conduz à perda de neurónios em áreas como o hipocampo e lobos parietais e leva a uma rápida atrofia na matéria cinzenta do córtex cerebral. (17)

A neurodegeneração conduz a um declínio progressivo das capacidades físicas, comportamentais e funcionais do doente, que variam em função da área do cérebro afetada e da fase da doença. (17)

As manifestações clínicas típicas da DA que atualmente são a base para os critérios de diagnóstico são:

- (1) Perda de um nível anterior de função;
- (2) Interferência na vida diária, trabalho e interação social;
- (3) Perda cognitiva com grande destaque para a memória episódica, acompanhada de progressiva e crescente ligação com outros domínios cognitivos (função visoespacial, habilidades executivas, atenção, praxis, linguagem);

- (4) Progressiva deterioração comportamental (sintomas depressivos, comportamento perturbador, apatia, ansiedade, psicose). (2)

3.1. Manifestações clínicas

A DA tem um início insidioso e progressão gradual, existindo uma longa latência entre as primeiras alterações neuropatológicas e as primeiras manifestações clínicas. A primeira alteração neuropatológica da doença é a acumulação de agregados $A\beta$ que se depositam sob a forma de placas amiloides e amiloide vascular no neocórtex e hipocampo durante dez ou mais anos antes do aparecimento dos primeiros sintomas clínicos. De seguida ocorre um aumento dos ENF e a perda de neurónios que se correlacionam com as ligeiras alterações da memória. À medida que a patologia evolui, o comprometimento cognitivo torna-se mais grave e em última instância conduz à demência (Figura 2). (18)

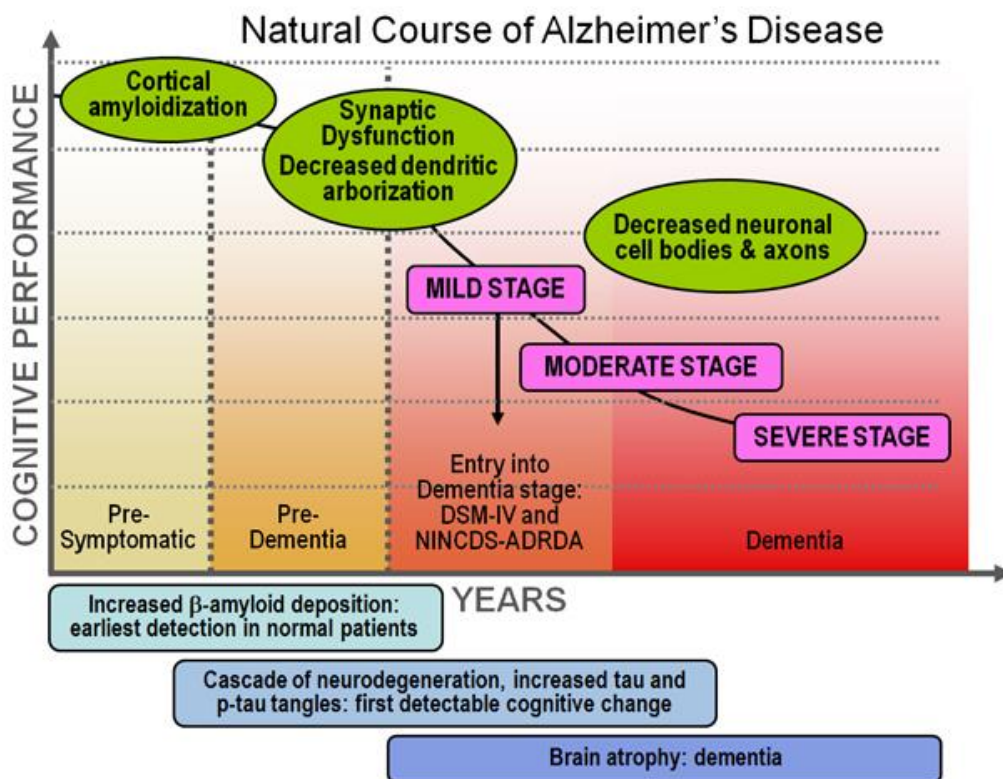


Figura 2- Curso natural da DA com a representação das várias fases da doença e as respetivas alterações neuropatológicas ao longo do tempo. Fonte: (71)

A DA manifesta-se através do declínio progressivo dos domínios cognitivos, comportamentais e funcionais que variam em função da área do cérebro afetada e da fase da doença. (3)

As principais características da DA são a perda progressiva da memória e deterioração das funções cognitivas como a memória, a linguagem e capacidades visoespaciais, uma vez que estas são as zonas do cérebro mais afetadas (Figura 3). (19)

O Exame do Estado Mini-Mental (MMSE) é um teste neuropsicológico que pode ser utilizado como uma estimativa da gravidade da doença. Este exame é constituído por um questionário de 30 pontos que avalia as capacidades como a leitura, escrita, orientação e memória a curto prazo. (6,17)

A DA não se manifesta sempre da mesma forma de pessoa para pessoa sendo que os sintomas não aparecem de forma igual e com o mesmo nível de gravidade. No entanto segundo o padrão geral de evolução da DA esta pode ser classificada em 4 fases que são a pré-clínica, leve, moderada e grave (Figura 2). (4)

Na fase pré-clínica as alterações patológicas associadas as DA começam no córtex entorrinal que está diretamente ligado ao hipocampo. De seguida as alterações prosseguem para o hipocampo sendo este essencial para a formação de memórias de curto prazo e de longo prazo. As regiões afetadas começam a atrofiar e as alterações cerebrais começam a surgir cerca de 10 anos antes do aparecimento dos primeiros sinais ou sintomas da DA. (16)

O primeiro sintoma visível da doença é a perda de memória, sendo esta a principal característica do comprometimento cognitivo leve (MCI). O MCI é considerado uma fase clínica inicial de transição entre o envelhecimento normal do cérebro e DA. (16,20)

Na fase leve já existe um crescente número de placas amiloides e ENF no córtex cerebral e deste modo a perda de memória prossegue e a disfunção de capacidades cognitivas começam a aparecer como a linguagem e raciocínio. O reconhecimento do problema vem muitas vezes gradualmente com o tempo porque os primeiros sinais podem ser confundidos com as mudanças que ocorrem normalmente com o envelhecimento.

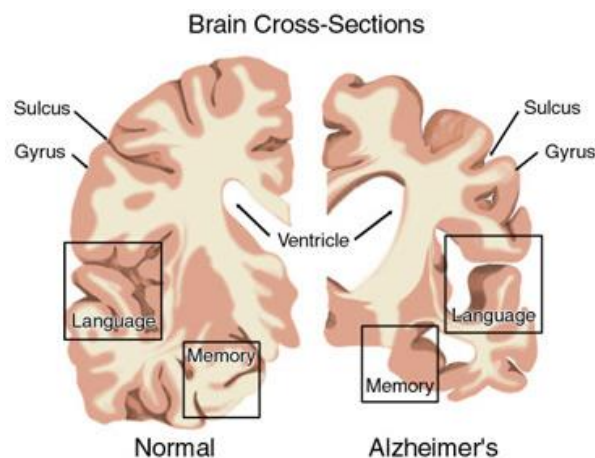


Figura 3 – Comparação de um cérebro saudável (esquerda) com um cérebro de um indivíduo com DA (direita). São visíveis as alterações neuropatológicas no cérebro do indivíduo com DA principalmente na zona responsável pela memória e linguagem. Fonte:(72)

O diagnóstico clínico de AD é normalmente feito durante esta fase. As características mais comuns da fase leve da DA são as seguintes:

- Perda de memória episódica;
- Confusão na localização de coisas ou locais que antes eram conhecidos;
- Dificuldade em realizar as tarefas diárias normais, demorando mais tempo;
- Problemas para trabalhar com dinheiro e pagar contas;
- Perda de espontaneidade e espírito de iniciativa;
- Alterações de humor e personalidade e aumento da ansiedade. (4,16,19)

Na fase moderada da doença as áreas afetadas alargaram-se para além das áreas do córtex cerebral que controlam a linguagem, o raciocínio, o processamento sensorial e o pensamento consciente. As regiões do cérebro afetadas continuam a atrofiar e os sinais e sintomas de doença a tornar-se cada vez mais pronunciados e generalizadas. Nesta fase começam a aparecer problemas de comportamento, tais como irritação e agitação e desta forma começa a ser necessário uma maior atenção e cuidados por parte dos familiares o que muitas vezes se torna difícil. As características mais comuns da fase moderada são as seguintes:

- Aumento da perda de memória e confusão;
- Desconcentração;
- Problemas em reconhecer amigos e familiares;
- Dificuldade com a língua, problemas com leitura, escrita, cálculo;
- Dificuldade em organizar pensamentos e pensar logicamente;
- Incapacidade de aprender coisas novas;
- Inquietação, agitação, ansiedade, especialmente no final da tarde ou à noite;
- Declarações ou movimentos repetitivos, contrações musculares ocasionais;
- Alucinações, delírios, desconfiança ou paranoia, irritabilidade;
- Perda do controlo de comportamentos de impulso;
- Problemas preceptivo-motoras (como dificuldade para sair de uma cadeira ou pôr a mesa). (3,16,20)

Na fase grave da DA as placas amiloides e os ENF estão dispersas por todo o cérebro e existe uma maior atrofia em mais áreas do cérebro. Nesta fase pode-se considerar que os indivíduos sofrem de demência grave em que as suas funções cognitivas

desapareceram quase por completo e perdem a capacidade de entender e utilizar a linguagem. Para além disso deixam de conseguir reconhecer os seus familiares e tornam-se completamente dependentes destes para a realização de qualquer tipo de tarefa uma vez que perdem a capacidade de andar, sentar, sorrir engolir e realizar as suas tarefas diárias. (20)

3.2. Fisiopatologia da doença

Macroscopicamente, o cérebro de um doente de DA mostra com frequência uma atrofia do córtex cerebral (resultante da atrofia do hipocampo e da amígdala), com alargamento dos sulcos cerebrais e giros estreitos que é mais marcado nos lóbulos frontais, temporais e parietais. Normalmente, esta atrofia tende a poupar o motor primário, sensorial, e áreas visuais. A perda de tecido cerebral, associado à atrofia, provoca uma acumulação de líquido cefalorraquidiano (LCR) nos ventrículos, o que leva a um alargamento compensatório dos ventrículos (hidrocefalia *ex vácuo*), especialmente do corno temporal, secundário à perda do parênquima (Figura 4). Este padrão é estereotipado e pode ser reconhecido no início do curso clínico da doença por ressonância magnética. (20,21)

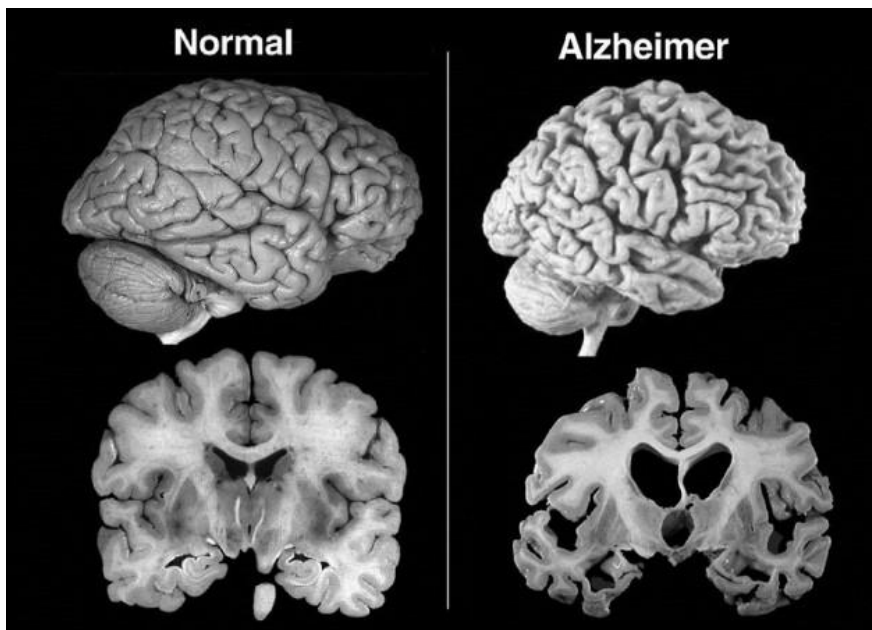


Figura 4 – Comparação de um cérebro normal (esquerda) com um cérebro de um indivíduo com DA (Direita). É visível a atrofia cerebral, o alargamento dos sulcos cerebrais e os giros estreitos, bem como o alargamento dos ventrículos no cérebro do indivíduo com DA. Fonte: (22)

Microscopicamente, as principais características patológicas da DA são a presença no cérebro de placas senis ou neuríticas que resultam da acumulação extracelular de A β e de ENF que resultam da acumulação intracelular da proteína tau hiperfosforilada. Estas alterações histopatológicas são responsáveis pela morte neuronal e perda sináptica pela atrofia da árvore dendrítica de grandes neurónios. (21,23)

A proteína A β e a proteína tau desempenham um papel crítico no desenvolvimento de DA, mas no entanto outros mecanismos de neurodegeneração têm sido propostos como as respostas pró-inflamatórias, a disfunção mitocondrial, o stress oxidativo, os fatores genéticos e ambientais. (21)

Apesar das grandes melhorias na compreensão da patogénese da doença que foram feitas ao longo últimas décadas, o mecanismo exato da DA ainda não está claro.(7)

A cascata metabólica amiloide e a modificação pós-tradução da proteína tau são consideradas as hipóteses mais importantes na DA, embora nenhuma delas seja suficiente para explicar a grande diversidade de anomalias bioquímicas e patológicas da DA. (7)

3.2.1. Hipótese da cascata amiloide

De acordo com a hipótese da cascata de amiloide, a acumulação de placas senis ou neuríticas extracelulares deve-se a um aumento da produção ou diminuição da depuração da proteína A β conduzindo ao depósito da proteína em placas. Esta hipótese é considerada o evento inicial da patogénese da DA. (7,24)

Estas placas podem ser encontradas no cérebro em regiões como o hipocampo e a amígdala, assim como no neocórtex, e habitualmente existe uma preservação relativa do córtex motor e do sensitivo primário. (2)

As placas senis são estruturas complexas constituídas por um núcleo central que contém a proteína β -amiloide, por isso também chamada de placa amiloide, e nas suas periferias estão rodeadas por aglomerados de axónios e dendritos distróficos (neurites), células microgliais e astrócitos reativos. Existem evidências que o núcleo das placas senis também contém outras proteínas como glicoproteínas de sulfato de heparina, ApoE, proteínas do complemento e α 1-antiquimiotripsina. (2,19,21)

A proteína β -amilóide, é um péptido com uma configuração em folha β pregueada que é produzido através da clivagem sequencial da proteína precursora da amiloide (PPA). (21)

A PPA é uma glicoproteína transmembranar expressa no cérebro e no SNC e é responsável pela regulação da função sináptica e da atividade neuronal. Em estudos realizados em murganhos verificou-se que os que sobreexpressam a PPA apresentam uma melhor plasticidade sináptica e memória espacial. Além disso, o processamento de PPA também regula o metabolismo do colesterol.(7)

Esta proteína pode ser processada proteoliticamente através de duas vias: a via não amiloidogénica (via α) e a via amiloidogénica (via β) através da atividade enzimática das proteases α , β e γ secretases (Figura 5). (7,25)

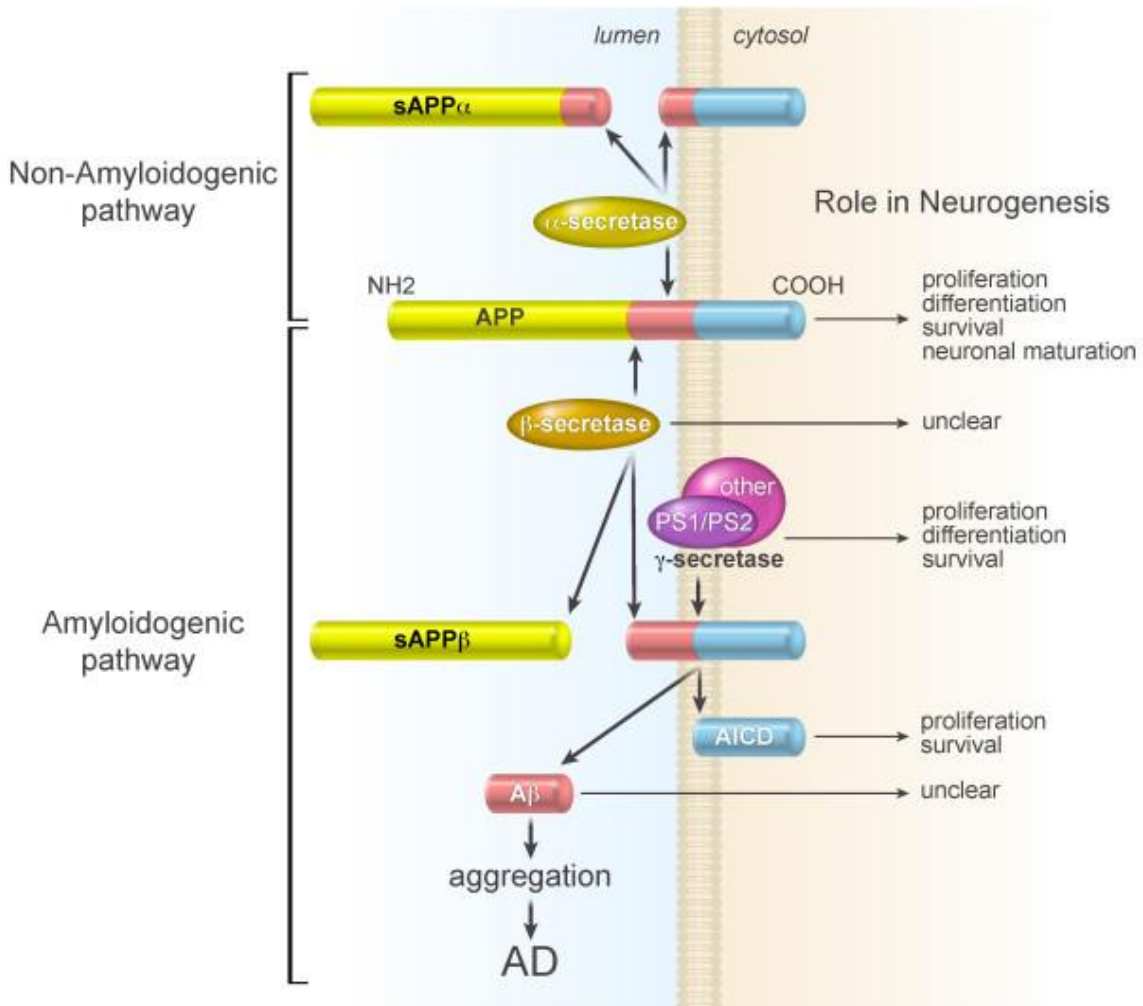


Figura 5 – Base molecular da hipótese da cascata amilóide. O processamento de PPA pode ocorrer através da via amiloidogénica através da atividade da β e γ - secretases ou através da via não amiloidogénica através da atividade da α -secretase. A via amiloidogénica é a via responsável pela produção de A β . Fonte: (6)

Na via não amiloidogénica, a PPA é clivada pela α -secretase dentro do domínio de $A\beta$, o que resulta na formação de um fragmento solúvel de PPA ($sPPA\alpha$) e um fragmento do terminal carboxilo ligado à membrana, impedindo assim a formação de $A\beta$.(6) O fragmento solúvel de PPA tem um papel importante na manutenção da atividade dos neurónios uma vez que pode apresentar características neurotróficas e neuroprotetoras, como por exemplo proteger os neurónios contra excitotoxicidade e regular a proliferação de células estaminais neurais. (5,24)

Na via amiloidogénica, o PPA é clivado na extremidade N-terminal (domínio extracelular) pela β - secretase (BACE1-local β da enzima 1 de clivagem da PPA) formando um fragmento insolúvel de PPA ($sPPA\beta$) e um fragmento ligado à membrana. Em seguida sofre uma segunda clivagem na extremidade C-terminal (domínio transmembranar) pela γ -secretase dando origem a um fragmento de domínio intracelular de PPA (AICD) e à proteína $A\beta$. A BACE1, que é crítica para a criação de $A\beta$, representando um alvo terapêutico importante para o tratamento da DA. (6,26)

De acordo com o padrão de clivagem da PPA pela γ -secretase, $A\beta$ pode variar em comprimento na posição C-terminal, dando origem a duas isoformas: $A\beta_{40}$ (40 aminoácidos) e $A\beta_{42}$ (42 aminoácidos). (21)

$A\beta_{42}$ corresponde a menos de 5% do $A\beta$ total, é a forma mais neurotóxica e tem propriedades hidrofóbicas (insolúvel) o que leva a uma maior tendência para se agregar em fibrilas que formam o principal composto de placas amiloides. Esta forma é predominantemente encontrada no parênquima cerebral de pacientes com DA. (24,26)

O $A\beta_{40}$ é a forma menos neurotóxica, corresponde a 95 % do $A\beta$ total e deposita-se principalmente nas paredes dos vasos sanguíneos das leptomeninges, do córtex cerebral e do cerebelo sob a forma placas cerebrovasculares ou angiopatia amiloide cerebral. A angiopatia amiloide cerebral está correlacionada com a patogénese da DA e pode enfraquecer a parede do vaso sanguíneo conduzindo à rutura vascular, hemorragias lobares e isquemia cerebral. (19–21)

No cérebro dos indivíduos com DA, a relação entre $A\beta_{42} / A\beta_{40}$ está muito aumentada comparativamente aos indivíduos saudáveis. A quantidade de $A\beta_{42}$ que se acumula no cérebro é determinada por três fatores: a quantidade de $A\beta$ produzida, a eficiência com que é degradada dentro do cérebro, e a forma como é transportada para a periferia. (25)

As enzimas neprilisina (NEP) e enzima degradante da insulina (IDE) são as responsáveis pela degradação de A β . A sua atividade diminui com o envelhecimento “normal” e em regiões afetadas pela DA. Um desequilíbrio entre a taxa de produção e a depuração de A β leva à sua deposição como placas amiloides. (25,27)

A transcrição da NEP é regulada pelo AICD que é libertado durante a formação de A β . Assim sendo quando é produzida A β , o AICD vai iniciar a transcrição de NEP de forma a degradar A β e assim reduzir os seus níveis. (7)

A IDE desempenha um papel essencial na homeostasia da insulina e na degradação de A β , implicando uma estreita relação entre AD e diabetes mellitus tipo II (DM2). (7)

O A β_{42} que não sofre degradação proteolítica, vai acumular-se no cérebro e depois vai ocorrer a sua agregação, oligomerização, a formação de fibrilas de proto-fibrilas e por último a deposição sob a forma de placas amiloides. A cascata de eventos neurotóxicos que se segue inclui uma resposta inflamatória, formação de radicais livres, stress oxidativo, e hiperfosforilação da proteína tau formando ENF. Esses processos contribuem para a disfunção sináptica e dos neurotransmissores (por ex. acetilcolina, glutamato, dopamina, serotonina), excitotoxicidade, e por conseguinte a morte neuronal em áreas críticas relacionadas com funções cognitivas. (24,26)

Estudos de correlação clínico-patológicos verificaram que as placas amiloides podem existir em indivíduos “normais” sem comprometimento cognitivo associado. Até 30% destes indivíduos, tem cerca de 70 anos e podem ter placas amiloides sem apresentar disfunção cognitiva. Tal facto demonstra existir uma fraca correlação entre o número de placas amiloides e a gravidade da demência. (20,24,28)

3.2.2. Modificação pós-tradução da proteína tau

Os ENF encontram-se no interior da célula neuronal, estando distribuídos por várias regiões do cérebro como o hipocampo, amígdala, córtex entorrinal e neocórtex. Estes são compostos por agregados proteicos que consistem em filamentos helicoidais emparelhados formados pela proteína tau hiperfosforilada. Outras proteínas também foram identificadas nos ENF tais como a ubiquitina, as colinesterases e proteína A β . (21,29)

A proteína tau pertence ao grupo de proteínas associadas aos microtúbulos (MAP), que interagem e promovem a montagem da tubulina em microtúbulos, sendo assim responsável pela sua estabilização. Os microtúbulos são um dos principais componentes do citoesqueleto neuronal que define a morfologia normal, fornece suporte estrutural para os neurónios, regula o transporte axonal e o tráfego intracelular entre o corpo celular e as sinapses. A montagem dos microtúbulos é regulada pelo estado de fosforilação da tau, sendo este último normalmente regulado pela ação de cinases e fosfatases na molécula tau. (8,21,28)

Alterações na quantidade ou na estrutura da proteína tau pode afetar o seu papel como um agente estabilizador dos microtúbulos, bem como alguns dos processos em que se encontra envolvida. Na DA, o estado conformacional da proteína tau encontra-se alterada, isto deve-se ao facto desta proteína ser alvo de modificações pós-traducionais como por exemplo fosforilação anormal (hiperfosforilação), acetilação, glicação, nitração, clivagem proteolítica (truncamento), entre outros. (28,29)

A hiperfosforilação é a modificação pós-tradução da tau mais comum, e corresponde à adição de um grupo fosfato por esterificação em três tipos de aminoácidos: serina, treonina e tirosina. (28)

O nível de fosforilação de tau é determinada principalmente pelo equilíbrio entre a fosforilação das proteínas cinases e desfosforilação das proteínas fosfatases. As principais proteínas cinases envolvidas são a *glycogen synthase kinase 3 beta* (GSK3 β), *cyclin-dependent Kinase* (CDK5) e a *extracellular signal-regulated kinase 2* (ERK2). A proteína fosfatase – 2A (PP2A) é responsável por mais de 70% da atividade das fosfatases celulares e está associada à regulação do nível de fosforilação da tau e previne/reduz a formação de ENF. A interrupção deste equilíbrio contribui para a fosforilação anormal da tau observada na DA. Isto ocorre devido ao excesso de ativação de GSK3 β e inibição da PP2A que contribui de forma significativa para a hiperfosforilação de tau. (21,28,29)

A hiperfosforilação da tau reduz a sua afinidade para os microtúbulos e consequentemente impede a sua ligação, provocando uma desintegração dos microtúbulos, o que resulta na desestabilização do citoesqueleto neuronal e na auto-agregação da tau em estruturas fibrilares dentro dos neurónios na forma de ENF (Figura 6). Esta desestabilização resulta em perturbações das funções celulares dependentes da tau incluindo o crescimento axonal, transporte de vesículas e organelos intracelulares

(incluindo a mitocôndria), bem como a propagação do sinal nervoso ao longo da rede de nervos formado pelos microtúbulos. (21,28,29)

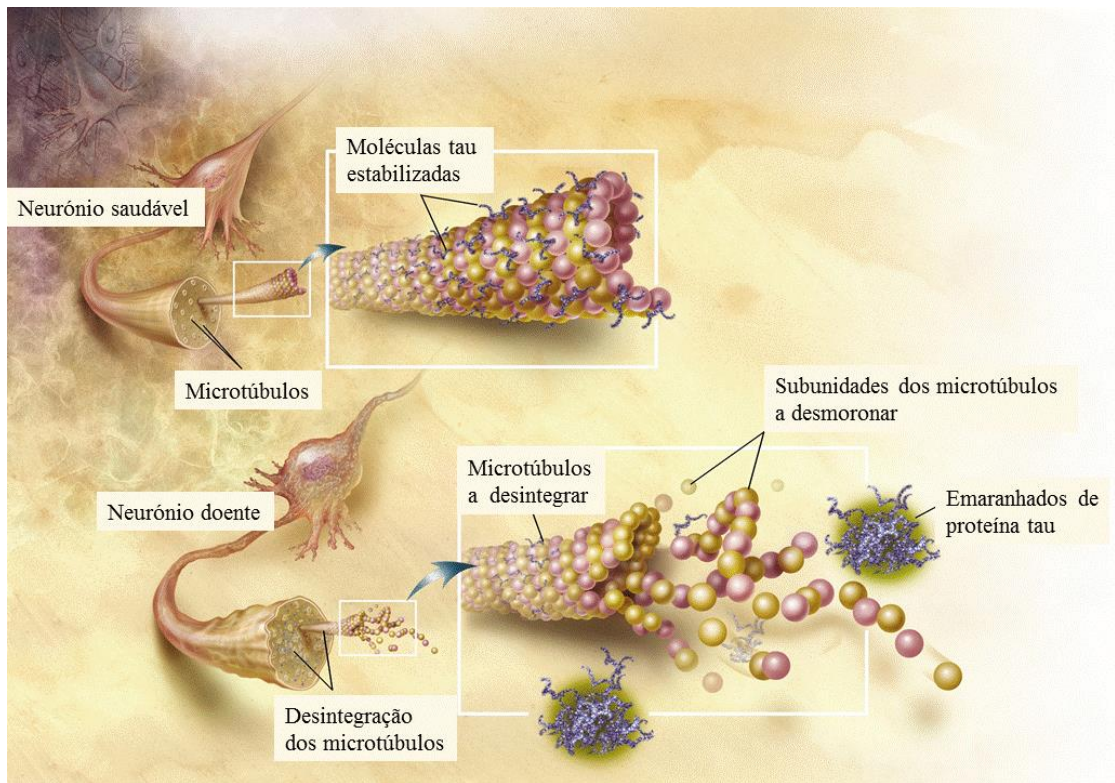


Figura 6 – Comparação entre um neurónio saudável e um neurónio de um indivíduo com DA em que se verifica a desintegração dos microtúbulos com consequente formação de ENF. Adaptado de (73)

A ausência das mitocôndrias e do retículo endoplasmático nas regiões periféricas dos axónios pode produzir uma redução da glucose, metabolismo dos lípidos e da síntese da adenosina trifosfato (ATP) e perda da homeostasia do cálcio, que conduz a um processo de degeneração distal de axónios. (28)

Contrariamente ao observado com as placas amiloides, estudos clínico-patológicos demonstraram que a acumulação de ENF, perda de neurónios e em particular a perda sináptica ocorre em paralelo com a progressão do declínio cognitivo. Desta forma estabeleceu-se que a quantidade e distribuição de ENF (hipocampo, córtex entorrinal, neocórtex) se correlaciona fortemente com a gravidade e a duração da demência. (20,28)

3.2.3. Disfunção mitocondrial e stress oxidativo

Os neurónios dependem quase exclusivamente da mitocôndria, em particular da fosforilação oxidativa para satisfazer as suas necessidades energéticas. Deste modo a mitocôndria é fundamental na produção de energia necessária ao bom funcionamento dos neurónios, mas no entanto a fosforilação oxidativa é um dos principais processos responsáveis pela produção de espécies reativas de oxigénio (*reactive oxygen species* – ROS) e de azoto (*reactive nitrogen species* – RNS) levando à formação de stress oxidativo. (30,31)

O stress oxidativo é considerado um fator de desenvolvimento da DA, no entanto o papel do stress oxidativo não é universalmente aceite. Fisiologicamente, o stress oxidativo é um desequilíbrio entre os níveis de ROS e RNS e a capacidade do organismo para produzir antioxidantes de baixo peso molecular e /ou enzimas antioxidantes de elevado peso molecular que degradam as ROS e RNS. (31)

Este desequilíbrio vai aumentar a quantidade de ROS e RNS no organismo sendo que estes vão danificar vários componentes celulares incluindo as mitocôndrias (proteínas, lípidos e DNA) que conduz a uma disfunção mitocondrial e consequente diminuição da síntese de ATP, perda da homeostase do cálcio que vai conduzir à degeneração dos neurónios. (32,33)

O stress oxidativo e inflamação são importantes na cascata patogénica de neurodegeneração em DA. A neuroinflamação presente na DA pode ser uma causa ou uma consequência do stress oxidativo crónico. As ROS e RNS podem estimular a transcrição de genes pró-inflamatórios na microglia e astrócitos conduzindo a várias reações inflamatórias. Consequentemente a inflamação aumentada pode gerar grandes quantidades ROS e RNS tornando-se um ciclo vicioso que contribui para a disfunção neuronal irreversível e morte neuronal. Muitas pesquisas evidenciaram também que a interação entre stress oxidativo e neuroinflamação pode aumentar a formação de A β (Figura 7). (17,33,34)

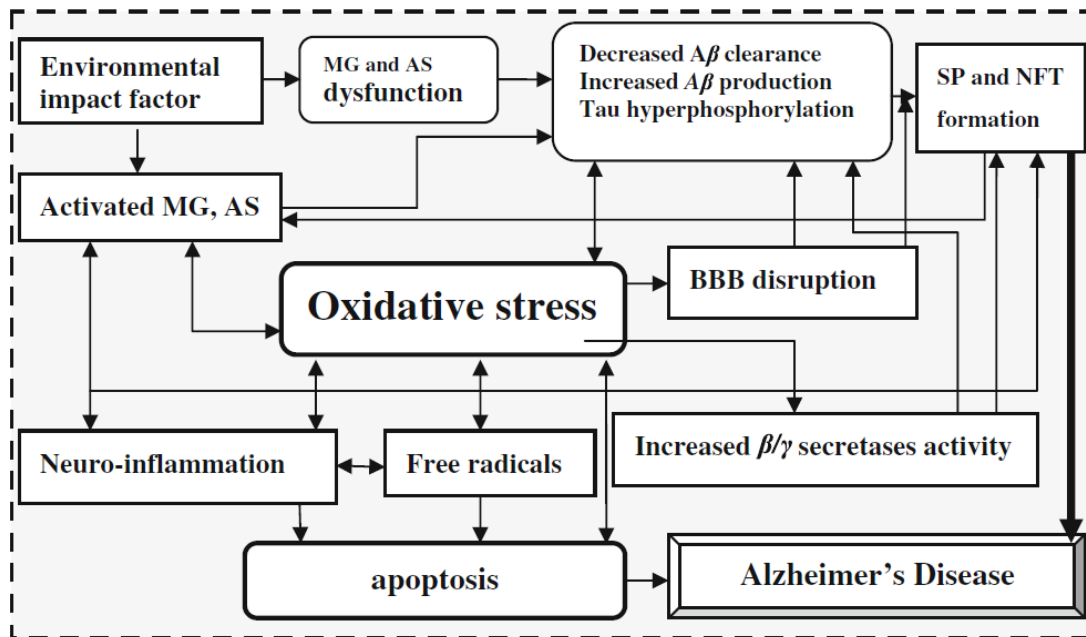


Figura 7 – Esquema de possíveis causas e consequências do stress oxidativo que conduzem à neurodegeneração e consequentemente à DA. Fonte: (33)

A BHE também pode sofrer uma degeneração progressiva causada pelos danos oxidativos que provocam uma diminuição da elasticidade dos vasos e diminui a integridade da BHE. Estas perturbações na BHE conduzem a uma diminuição da eliminação de A β e aumento do afluxo de A β para o LCR contribuindo assim para a deposição de A β em placas e em última instância à morte neuronal. (32,33)

3.2.4. Disfunção de neurotransmissores

3.2.4.1. Hipótese colinérgica

A acetilcolina é um neurotransmissor que está largamente distribuído no cérebro: no prosencéfalo (inclui o córtex), mesencéfalo e tronco cerebral. Os neurónios colinérgicos localizados no prosencéfalo formam núcleos magnocelulares de entre os quais faz parte o *núcleo basal de Meynert*. É nesta região que é produzida a enzima colina acetiltransferase (ChAT) que tem ação em estruturas do SNC como o hipocampo, córtex cerebral e amígdala onde a enzima vai catalizar a reação da síntese da acetilcolina (ACh). (30,35)

A acetilcolina atua em dois tipos de recetores: os muscarínicos (acoplados à proteína G) e os nicotínicos (ionotrópicos). (30)

Os receptores muscarínicos da acetilcolina (mAChRs) no cérebro são predominantemente de classe M₁ acoplados à G_q, e a ativação destes receptores pode resultar na excitação através do bloqueio dos canais de K⁺ do tipo M. Os mAChRs nos terminais colinérgicos têm a função de inibir a liberação de ACh e deste modo os antagonistas muscarínicos bloqueiam esta inibição e assim aumentam a liberação de ACh. (36)

Os receptores nicotínicos da ACh (nAChRs) são canais de cátions acionados por ligantes permeáveis aos iões de Na⁺, K⁺ e Ca²⁺. A maioria dos nAChRs estão localizados nos neurónios pré-sinápticos e atuam de forma a facilitar a liberação de outros neurotransmissores como o glutamato e a dopamina. Em algumas situações os nAChRs atuam nos neurónios pós-sinápticos para mediar a transmissão excitatória rápida. Os receptores muscarínicos podem mediar os principais efeitos comportamentais associados à ACh (por ex. aprendizagem, memória a curto prazo). (35–37)

Nos neurónios pré-sinápticos ocorre a síntese de ACh a partir de colina e acetil-CoA mediada pela ChAT sendo a enzima limitadora da velocidade da síntese de ACh. Após a sua formação é armazenada em vesículas e de seguida libertada na fenda sináptica onde se pode ligar nos neurónios pós-sinápticos aos receptores muscarínicos subtipo M₁ ou aos receptores nicotínicos em particular o $\alpha 7$ que é o que está envolvido na maior parte dos efeitos da ACh sobre as funções cognitivas (Figura 8). A restante ACh é degradada na fenda sináptica pelas enzimas acetilcolinesterase (AChE) ou butirilcolinesterase (BChE), que permite a sua recaptação através do transportador de colina de elevada afinidade (HACU). (37)

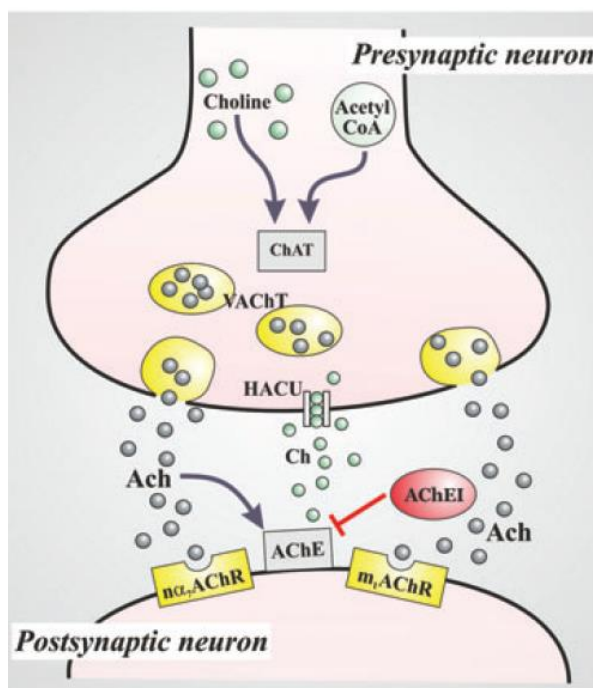


Figura 8 – Resumo da via de síntese da acetilcolina e do funcionamento dos IACHe. Fonte: (37)

Na DA ocorre uma atrofia do *núcleo basal de Meynert*, provocando assim uma diminuição na síntese da ChAT e consequentemente da acetilcolina. Desta forma, uma alternativa para substituir a transmissão colinérgica na DA será administrar fármacos que

modulem de forma positiva a função colinérgica. Assim, os níveis sinápticos de acetilcolina (ACh) podem ser aumentados desde que se possa inibir a ação da acetilcolinesterase ou até mesmo estimular a liberação de ACh e a resposta dos recetores pós-sinápticos de ACh. Assim sendo é necessário para o tratamento da DA fármacos que aumentem a liberação de ACh ou que dificultem a sua degradação como é o caso dos IACHÉ. (37)

3.2.4.2. Sistema glutamato

O glutamato é o mais abundante e principal neurotransmissor excitatório do SNC e é produzido principalmente por neurónios e células gliais locais a partir de precursores derivados de glicose e α -cetogluturato. Este neurotransmissor está envolvido numa grande variedade de funções, incluindo a transmissão sináptica, o crescimento e diferenciação neuronal, a plasticidade sináptica, memória e aprendizagem. Os neurónios glutamatérgicos estão situados em áreas que são atingidas pela DA como o hipocampo e córtex frontal, temporal e parietal. (38,39)

Em condições normais, as concentrações de glutamato no espaço extracelular é regulado por transportadores localizados em ambos os terminais nervosos e que envolve as células gliais. Estes transportadores previnem os danos celulares gerados devido a uma ativação excessiva dos recetores de glutamato e podem ser de dois tipos: os transportadores vesiculares de glutamato (VGLUT) e os transportadores de aminoácidos excitatórios (EAAT). (39)

Existem duas famílias de recetores de glutamato localizados na membrana plasmática dos neurónios que são os recetores ionotrópicos (iGluR) que estão acoplados a canais iónicos e os metabotrópicos (mGluR) que estão acoplados à proteína G. A família iGluR é dividida em 3 classes de recetores que são baseados em agonistas específicos e são permeáveis a diferentes catiões. Estes são os recetores de N-metil-D-aspartato (NMDA) que são permeáveis aos iões de cálcio, os recetores de *amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato* (AMPA) e os recetores de cainato que são permeáveis aos iões Na^+ e K^+ . (38,40)

O glutamato é essencial para o estabelecimento de novas redes neuronais que formam as memórias e ajudam na aprendizagem através de um processo chamado de

potenciação de longa duração (LTP) da força sináptica, sendo que a depressão de longa duração (LTD) tem o efeito contrário. A LTP fortalece as sinapses, aumenta a densidade sináptica e ocorre após ativação dos recetores de NMDA. (39)

Nos neurónios pré-sinápticos, os VGLUTs, mantêm os níveis de glutamato armazenado em vesículas sinápticas, sendo que quando ocorre despolarização destes neurónios, o glutamato é libertado na fenda sináptica onde se liga e ativa os seus recetores localizados na membrana pós-sináptica (Figura 9). (38,39)

Os recetores AMPA e mGluRs são ativados pela libertação inicial de glutamato, sendo que só após a ativação destes recetores e da estimulação contínua de glutamato é que são ativados os recetores de NMDA. (38,39)

Os recetores de NMDA são caracterizados por uma elevada permeabilidade aos iões de cálcio e quando os neurónios estão em repouso

estes recetores estão bloqueados por iões de magnésio. No entanto quando ativados os recetores de NMDA, o magnésio é libertado, abrindo o recetor e assim permitindo a entrada livre de cálcio no

neurónio pós sináptico. (38,39) Por conseguinte esta ativação vai favorecer a ativação de diversas vias metabólicas (CaMK, ERK, e CREB) responsáveis pela ativação do mecanismo de LTP. Por outro lado, há uma inibição das vias metabólicas responsáveis pela depressão de longo prazo e remodelação sináptica (GSK3 β e MAPK). (40)

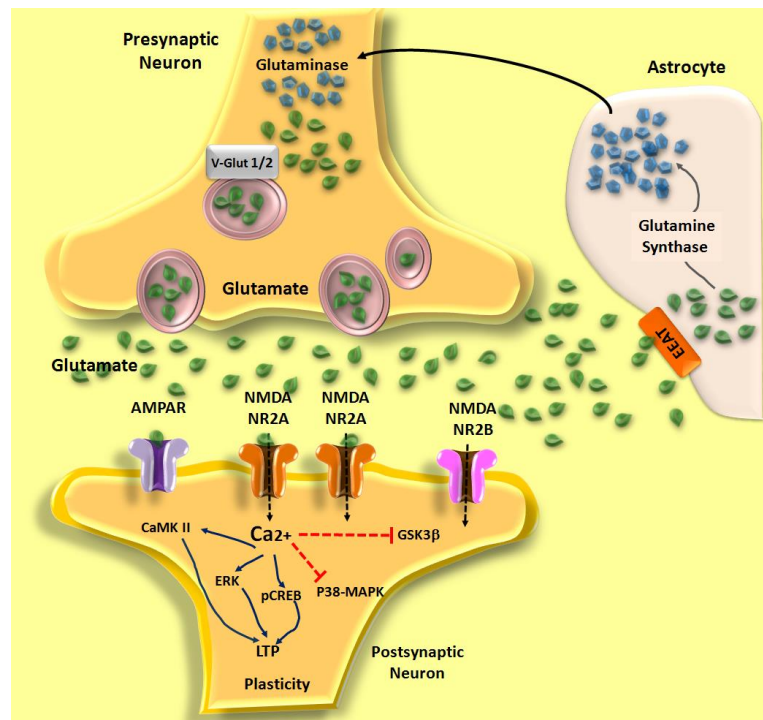


Figura 9 - Esquema do ciclo normal do glutamato. Está representado o armazenamento do glutamato em vesículas, a sua libertação para a fenda sináptica, a sua mediação na transmissão sináptica e a sua eliminação nos astrócitos. Fonte: (40)

CaMK - *Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase*; ERK - *extracellular signal-regulated kinases*; CREB - *cAMP response element-binding protein*; MAPK - *Mitogen-activated protein kinases*

O excesso de glutamato é transportado pelos EAAT para dentro dos astrócitos. Neste local o glutamato é convertido em glutamina pela ação da glutamina-sintase e regressa novamente aos terminais pré-sinápticos onde a enzima glutaminase converte de novo a glutamina em glutamato que é armazenado em vesículas através do VGLUT. (34,40) Este é o único mecanismo existente para a remoção do glutamato extracelular, sendo deste modo importante para controlar a concentração de glutamato na sinapse, mantendo concentrações baixas e não tóxicas do mesmo. (39)

Os péptidos de A β extracelulares, característicos da DA, aumentam a libertação pré-sináptica de glutamato, destabilizam a membrana plasmática através da formação de poros que alteram o fluxo normal de iões, ligam-se aos recetores de NMDA alterando a homeostasia do cálcio e também bloqueiam os transportadores EAAT. Por conseguinte, ocorre um bloqueio na eliminação do glutamato pelos astrócitos o que leva a um aumento da concentração de glutamato na fenda sináptica. O glutamato em excesso é extremamente tóxico para os neurónios, sendo este facto denominado de excitotoxicidade (Figura 10). (30,39)

A ativação constante e excessiva dos recetores do NMDA contribui para um grande influxo de cálcio que inibe as vias metabólicas responsáveis pela LTP e ativa as vias de sinalização responsáveis pela diminuição neuronal e perda sináptica (p38-MAPK, a GSK-3 β , JNK), que conduz à fosforilação da tau e morte neuronal. (39)

O aumento da concentração do cálcio intracelular pode ativar várias

enzimas, como as proteases e lipases que causam lesão na membrana; a fosfolipase A₂, a sintase do monóxido de azoto (NO) e a xantina oxidase que produzem ROS e RNS devido

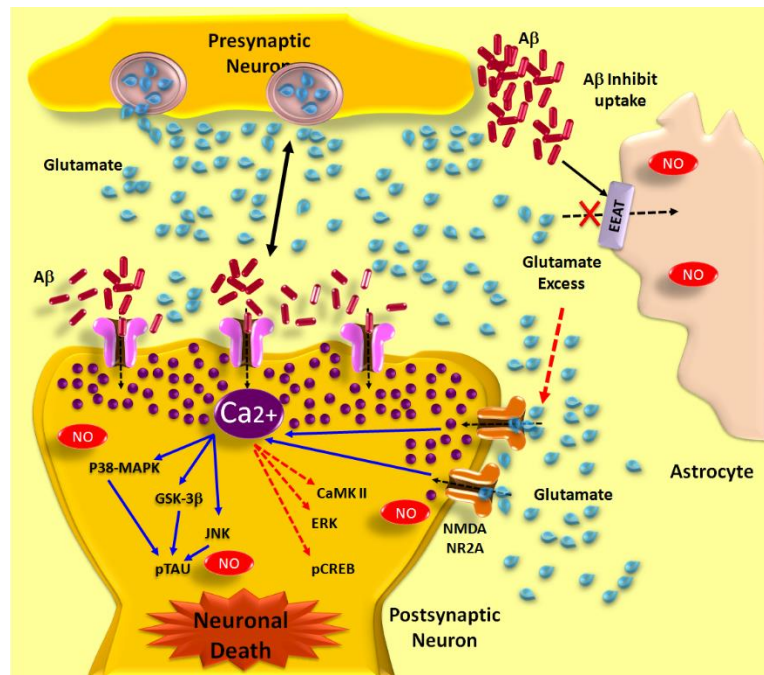


Figura 10 - Esquema representativo da transmissão mediada pelo glutamato na sinapse na DA. Os oligómeros de A β interferem com a sinalização dos recetores NMDA e com a eliminação do glutamato provocando excitotoxicidade e morte neuronal. Fonte: (40)

à ativação da cascata do ácido araquidônico. Consequentemente, vai inibir a captação do glutamato pelos EEAT através da inibição da glutamina sintase que é alvo de danos oxidativos.(30)

De forma a manter as concentrações de cálcio intracelulares baixas este é captado pela mitocôndria e retículo endoplasmático, sendo um processo que gasta muita energia. No entanto quando existem elevadas concentrações de cálcio ocorre uma sobrecarga a nível da mitocôndria, ocorrendo disfunção mitocondrial e consequentemente há uma redução da síntese de energia (ATP) e redução da energia disponível para as bombas da membrana. Desta forma existe uma menor capacidade para armazenar o cálcio e consequentemente existe uma grande probabilidade de ocorrer excitotoxicidade. (30)

Os níveis intracelulares de cálcio elevados podem resultar em excitotoxicidade, elevados níveis de ROS e RNS e disfunção mitocondrial que levam a respostas intraneuronais que conduzem à degenerescência e morte neuronal. (40)

4. Etiologia da doença de Alzheimer

4.1. Fatores de risco para o desenvolvimento de DA

Embora a etiologia exata da DA permaneça desconhecida, atualmente concorda-se que é uma doença multifatorial, sendo o resultado de complexas interações entre o envelhecimento, fatores genéticos e fatores não genéticos (como estilo de vida e fatores ambientais). (41)

4.1.1. Fatores de risco genéticos

A DA pode ser dividida em duas formas diferentes: a esporádica e a familiar. A forma esporádica de DA é a mais comum, responsável por 95% dos casos de doença e é uma forma de início tardio que surge depois dos 65 anos, sendo a idade o maior fator de risco. A forma familiar de DA, é mais rara, correspondendo aos restantes 5 % de todos os casos de doença e é uma forma de início precoce que surge antes dos 60 anos. A esta forma está associada um padrão de herança mendeliana e normalmente tem uma taxa de progressão rápida. (7,9)

Alguns fatores de risco para DA são não modificáveis que é o caso do envelhecimento e dos fatores genéticos sendo a DA neste último causada por mutações genéticas que interferem na síntese e metabolismo da A β . (24)

A forma familiar de DA está associada a mutações em três genes: um gene que codifica a proteína precursora da proteína β - amiloide (PPA) e dois genes que codificam as presenilinas 1 e 2 (PSEN1, PSEN2) que estão envolvidas no processo metabólico da PPA. (23,42)

As mutações ligadas a estes três genes têm alta penetrância (>85%) e são frequentemente herdadas segundo um padrão autossômico dominante, levam a níveis elevados do péptido A β ₄₂ e conseqüentemente à sua agregação. (23,42)

As mutações no gene de PPA são responsáveis por uma fração muito pequena (<1%) de todos os casos de DA. Estas influenciam a transformação e /ou agregação proteolítica de PPA uma vez que estas ocorrem dentro ou perto dos exões A β -codificadores de PPA. (23)

As pessoas com síndrome de Down (trissomia 21) normalmente desenvolvem as características clínicas e histopatológicas de DA. Isto deve-se ao facto do gene que codifica a PPA localizar-se no cromossoma 21, e tendo em conta que estes indivíduos têm uma cópia extra deste cromossoma vai haver uma maior predisposição à produção aumentada de PPA e um acúmulo precoce de $A\beta$. (7)

A maioria das mutações no PSEN são substituições de um único nucleótido, mas pequenas deleções e inserções também têm sido descritas. Estas mutações neste gene alteram a clivagem proteolítica mediada γ -secretase de PPA, promovendo a via amiloidogénica o que resulta num aumento na proporção de Ab_{42} / Ab_{40} e também participam na regulação da degradação de $A\beta$. As mutações no gene PSEN são as mais comuns das mutações na DA do tipo familiar. (7,9,23)

A forma esporádica de DA está associada a mutações no gene da ApoE e a fatores de risco ambientais como idade, hipertensão, colesterol, diabetes, entre outros.(9)

A ApoE é a apolipoproteína predominante no SNC e é sintetizada e segregada principalmente pelos astrócitos e microglia. Esta tem um papel crítico no transporte de lipídios entre as células do SNC mantendo a homeostasia lipídica, reparação de neurónios lesados, as conexões sinápticas e eliminação de toxinas. (7)

A ApoE é a variante genética mais comum para DA de início tardio e é expressa nos seres humanos em três alelos comuns que são $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$. O alelo $\epsilon 4$ está associado a um risco aumentado de desenvolver DA e diminui a idade de início da doença. (23,42)

Os genótipos da ApoE $\epsilon 2/\epsilon 4$ ou $\epsilon 3/\epsilon 4$ aumentam o risco de desenvolver doença em aproximadamente três vezes, enquanto que o genótipo da ApoE $\epsilon 4/\epsilon 4$ aumenta o risco de aproximadamente 15 vezes. (9,23,42)

A ApoE promove a degradação proteolítica de $A\beta$ através da modulação da atividade das enzimas de degradação de $A\beta$, que dependem da estrutura das isoformas de ApoE. A isoforma $\epsilon 4$ é a que promove uma menor degradação de $A\beta$ e consequente deposição $A\beta$, neurotoxicidade, stress oxidativo, formação de ENF, e aumento da inflamação no cérebro. (5,9) Dado que o processamento de PPA é dependente dos níveis de colesterol da membrana e que ApoE é o transportador de colesterol, esta também pode participar na regulação da produção de $A\beta$. (7)

O risco atribuível à população (ou seja, a proporção com DA de início tardio associada à ApoE) é estimada em 20%, tornando-se um fator de risco importante. (9)

Estudos de associação de genoma (GWA) e recentes meta-análises identificaram vários polimorfismos genéticos que estão associados à DA de início tardio. Foram identificados os genes: *complement receptor 1* (CR1), *clusterin* (CLU) e *Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein* (PICALM). (2,9)

4.1.2. Fatores de risco não genéticos

Os fatores de risco não genéticos englobam fatores ambientais e estilos de vida (educação, dieta, exercício físico). Dentro dos fatores ambientais temos as doenças cerebrovasculares e cardiovasculares como por exemplo acidente vascular cerebral (AVC), hipertensão arterial, hipercolesterolemia, diabetes, obesidade, tabagismo, entre outras (Tabela 2). (23)

Tabela 2 - Fatores que modificam o risco da doença de Alzheimer. Adaptado de (23)

Fator modificador	Efeito	Mecanismos possíveis
Doença cerebrovascular	Aumenta	Destruição do Parênquima Danos em locais específicos Aumento da deposição A β
Fumador	Aumenta	Efeitos cerebrovasculares Stress oxidativo
Hipertensão	Aumenta	Doença microvascular
Diabetes tipo II	Aumenta	Efeitos cerebrovasculares Insulina e A β competem para a remoção
Obesidade	Aumenta	Aumento do risco para diabetes tipo II
Educação	Diminui	Fornece reserva cognitiva
Atividade de lazer	Diminui	Melhora o metabolismo dos lípidos Estimulação mental
Dieta mediterrânea	Diminui	Antioxidante e anti-inflamatória
Atividade física	Diminui	Ativa a plasticidade do cérebro Promove a vascularização do cérebro

Os fatores ambientais e estilos de vida podem ser modificáveis tornando esta doença passível de ser evitada. A prevenção primária é essencial para diminuir a incidência da doença, através da eliminação ou tratamento dos fatores de risco, que pode resultar na diminuição e atraso no desenvolvimento da doença. (41)

4.1.2.1. Doença Cerebrovascular

Alterações cerebrovasculares, tais como enfartes hemorrágicos, enfartes corticais isquêmicos, vasculopatias e alterações da substância branca aumentam o risco de demência, mas os mecanismos subjacentes permanecem desconhecidos. (42)

Alguns mecanismos propostos para o AVC conduzem a uma disfunção cognitiva que incluem a destruição do parênquima cerebral com consequente atrofia, danos cerebrais em locais específicos responsáveis pela memória (por ex. no tálamo no caso de AVC talâmicos), um aumento na deposição A β e indução de respostas inflamatórias. (23,42)

A hipoperfusão cerebral crônica ou episódica (por ex. AVC) pode iniciar ou acelerar os processos neurodegenerativos normais com o envelhecimento cerebral. A hipoperfusão pode conduzir a uma sobreexpressão da CDK5, que leva ao aumento dos níveis de BACE1, aumentando o processamento da PPA e consequentemente aumento da A β . A CDK5 é uma serina-treonina cinase importante para a formação de sinapses e plasticidade sináptica. Uma ativação anormal da CDK5 está associada à apoptose e morte neuronal. Esta cinase pode estar também envolvida na fosforilação anormal da tau, contribuindo para a formação de ENF e assim ser a proteína que liga este acontecimento à formação de placas amiloides. (23,42)

4.1.2.2. Hipertensão

Os dados de estudos transversais e estudos longitudinais sobre os níveis de pressão arterial em idosos com declínio cognitivo e demência permanecem inconsistentes. (42)

A hipertensão pode aumentar o risco de DA através do efeito que exerce sobre a integridade vascular da BHE, uma vez que pode provocar a rutura desta barreira resultando na extravasação de proteínas plasmáticas (contendo A β) no tecido cerebral.

Por sua vez, esta extravasão pode levar a danos celulares, uma redução da função sináptica ou neuronal, apoptose, e um aumento na acumulação de A β conduzindo a um comprometimento cognitivo. (42)

4.1.2.3. Diabetes mellitus do tipo II

A diabetes mellitus do tipo II (DM II) é considerado um fator de risco para a demência, sendo que a sua presença está associada a um aumento de duas vezes no risco de desenvolvimento de DA. (23,43)

A DM II é responsável pelo desenvolvimento de doença microvascular cerebral que devido a danos nas células endoteliais pode provocar rutura da BHE e conduzir à neurodegeneração e inflamação. (42)

Na DM II a redução na sinalização da insulina provoca uma diminuição na síntese da IDE e conseqüentemente hiperinsulinémia. Esta condição conduz à acumulação de A β no cérebro tendo em conta que a sua remoção fica comprometida uma vez que a insulina e a A β competem pela IDE. (43) Esta acumulação de A β e hiperinsulinémia ativa a GSK3 β aumentando a atividade na fosforilação de tau. (43)

Problemas de obesidade ou índice de massa corporal elevados pode ser considerados como fator de risco de DA pelo facto de poder haver uma maior predisposição para resistência à insulina e assim desenvolver DM II. (43)

4.1.2.4. Colesterol

Os níveis elevados de colesterol total no sangue tem sido associado a um risco aumentado para desenvolver DA. Esta associação pode ser devido a dois mecanismos, primeiro, as concentrações elevadas de colesterol causam aterosclerose o que resulta num risco elevado para desenvolver doenças cardiovasculares e cerebrovasculares que devido à hipoperfusão cerebral provocam danos neurodegenerativos determinadas áreas do cérebro. Por outro lado, a produção, transporte e metabolismo de A β são modulados pelo colesterol pelo que níveis elevados de colesterol pode conduzir a uma maior produção e conseqüente deposição de A β no cérebro. O metabolismo do colesterol alterado e a

hipercolesterolemia parecem desempenhar um papel importante na formação da placa amiloide e hiperfosforilação da tau. (21,43)

4.1.2.5. Fumador

Os estudos realizados sobre o efeito do tabaco na DA têm sido controversos uma vez que uns estudos defendem que diminui o risco para desenvolver DA e outros estudos que aumenta. (42)

O tabaco produz um duplo efeito na DA, por um lado tem um efeito protetor e por outro lado é um fator de risco da doença. O efeito protetor deve-se ao facto da nicotina aumentar a libertação de acetilcolina, aumentando o número de recetores de acetilcolina nicotínicos (nAChR) e assim melhorando a atenção e processamento de informações. Mas no entanto o efeito benéfico da nicotina é combatido pelo elevado stress oxidativo causado pelo tabaco, o que o torna um fator de risco. Fumar aumenta a produção de radicais livres, levando a uma elevada tensão oxidativa e que afeta o sistema imunitário inflamatório que conduz à ativação dos fagócitos que geram maiores danos oxidativos. Por outro lado, fumar pode afetar o risco de DA através da promoção de doença cerebrovascular. (23,42)

4.2. Fatores de proteção que reduzem o risco da DA

4.2.1. Educação

Os indivíduos com estilos de vida intelectualmente enriquecidos, como aqueles com alto nível de escolaridade e /ou profissional, têm um risco reduzido de expressar DA. Isto acontece não devido a uma redução na neuropatologia relacionada com a doença, mas sim a um aumento do limiar para o qual estas alterações patológicas que se manifestam clinicamente. (23,43)

Existem evidências do papel da educação no declínio cognitivo da DA, sendo que existem estudos que referem que indivíduos com maior escolaridade apresentam um declínio cognitivo e funcional mais lento. Assim sendo uma educação e ocupação mais elevada fornece reserva cognitiva.(23)

Vários estudos têm verificado que as pessoas que se envolvem em atividades de lazer cognitivamente estimulantes (como a aprendizagem, ler ou jogar jogos) e atividades sociais (como visitar/conviver com amigos e familiares) são menos propensas a desenvolver demência. (42,43)

4.2.2. Dieta

O consumo de uma dieta mediterrânea, que se caracteriza por uma alta ingestão de alimentos vegetais e peixes, com o azeite de oliva como a principal fonte de gordura monoinsaturada, a baixa ingestão de carne vermelha e de aves e um consumo moderado de vinho, é associada a uma menor incidência de DA e de MCI. (42)

As dietas ricas em peixes, frutas e vegetais são ricas em antioxidantes e ácidos gordos polinsaturados (PUFAs). Para além de reduzir o stress oxidativo, os PUFAs tem efeitos favoráveis sobre funções neuronais e vasculares e processos inflamatórios. (42)

A deposição de A β leva a uma diminuição nas concentrações de ferro e de cobre cerebrais, resultando em stress oxidativo e danos neuronais, sendo assim a ingestão de antioxidantes (como vitamina C, carotenos) reduz o risco de DA através da diminuição do risco de doença vascular cerebral. (42)

O efeito protetor do vinho tinto é devido às propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias do resveratrol e melatonina. Este também possui atividade cardioprotetora, anti-diabética, atividades neuroprotetoras e anti-envelhecimento. (41)

4.2.3. Atividade física

A intervenção comportamental mais completa e bem pesquisada para o funcionamento cognitivo é a atividade física. O exercício aeróbico reduz o risco de comprometimento cognitivo e demência que pode ser explicado através do efeito neurotrófico direta de exercício ou por uma melhoria nos perfis de risco cerebrovasculares e cardiovasculares.(43)

O exercício ativa os mecanismos de plasticidade do cérebro, remodela o circuito neuronal no cérebro, promove a vascularização cerebral, e estimula a neurogênese. Pode

também aumentar a sobrevivência neuronal, aumentar os níveis de fator neurotrófico, mobilizar perfis de expressão de genes que seriam previstos para beneficiar da plasticidade cerebral, e reduzir os níveis de proteína C reativa e de marcadores inflamatórios como interleucina-6. Estudos realizados em animais sugerem que a atividade física diminui a taxa de formação de placas amiloides. (23,42)

5. Tratamento farmacológico da Doença de Alzheimer

Os tratamentos para DA aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) incidem sobre os sistemas de neurotransmissores (acetilcolina e glutamato) que são alterados durante o desenvolvimento da doença. A FDA aprovou o tratamento em duas classes de medicamentos: os inibidores da acetilcolinesterase (IACHe) e o antagonista do recetor de glutamato de N-metil-D-aspartato (NMDA) (Tabela 3). (3,24)

Tabela 3 – Comparação entre os fármacos IACHe e o antagonista dos recetores de NMDA a nível da fase da doença, dose inicial e de manutenção, tempo de semi-vida, ligação às proteínas plasmáticas, tipo de metabolização e eliminação e efeitos secundários. Fonte: (3,24,44) ST – sistema transdérmico; LP – libertação prolongada

Fármaco	Donepezilo	Rivastigmina	Galantamina	Memantina
Classe	IACHe			Antagonista NMDA
Fase da doença	Leve a moderada			Moderada a grave
Dose inicial	5 mg/dia	1,5mg/ 2x dia 4,6mg/24h (ST)	4mg/2x dia 8mg/dia (LP)	5 mg/dia
Dose de manutenção	5-23mg/dia	6mg/ 2xdia 9,5 mg/24h (ST)	12mg/ 2x dia 24mg/dia (LP)	10 mg/ 2x dia
Tempo de semi-vida	70 horas	1,5 horas	7 horas	60-80 horas
Ligação às proteínas plasmáticas	96%	40%	18%	45%
Metabolização	Hepática	Hidrólise mediada pela colinesterase	Hepática	Não Hepática
Eliminação	Renal	Renal	Renal	Renal
Efeitos secundários	Náuseas, desconforto abdominal, diarreia, insónia, bradicardia			Tonturas, dor de cabeça, obstipação, confusão

Para além dos medicamentos referidos anteriormente, de forma a tratar os sintomas comportamentais da doença também são utilizados em simultâneo antipsicóticos, antidepressivos e benzodiazepinas (Tabela 4). (26)

Os objetivos clínicos do tratamento de DA são aliviar os sintomas cognitivos, comportamentais e psicológicos da doença e retardar a progressão da doença. (9)

Os tratamentos atuais não alteram a progressão da doença sendo que apenas diminuem a severidade dos sintomas, proporcionando uma melhoria temporária no comprometimento cognitivo através de mecanismos colinérgicos e anti-glutamatérgicos. Atualmente encontram-se em desenvolvimento tratamentos modificadores da doença, que têm a capacidade de retardar ou interromper as alterações iniciais patológicas evitando assim a progressão da doença e alterando o curso natural da mesma. (24,45,46)

5.1. Inibidores da acetilcolinesterase

A hipótese colinérgica da DA conclui que os sistemas colinérgicos no cérebro são afetados no início do processo de doença, incluindo a perda progressiva de neurónios colinérgicos, a perda da função enzimática para a síntese de acetilcolina e degradação, o que conduz a uma perda de memória e a deterioração de outras funções cognitivas e não cognitivas tais como sintomas neuropsiquiátricos. (26)

Uma estratégia para aumentar a neurotransmissão colinérgica foi a utilização de IACHÉ que aumentam a transmissão sináptica colinérgica através da inibição da AChE na fenda sináptica, o que resulta numa redução da hidrólise da acetilcolina libertada a partir dos neurónios pré-sinápticos e consequente aumento de acetilcolina. (4,24,26)

Os IACHÉ foram os primeiros medicamentos aprovados pela FDA para o tratamento de DA com a aprovação da tacrina em 1993. No entanto, apesar da melhoria significativa na função cognitiva, a tacrina deixou de ser usada devido à elevada incidência de efeitos secundários incluindo a hepatotoxicidade. (5,9)

Mais tarde foram desenvolvidos IACHÉ de segunda geração que são o donepezilo, a rivastigmina e a galantamina. Estes são atualmente os fármacos aprovados para o tratamento de doentes com DA leve a moderada sendo que o donepezilo também está aprovado para o tratamento da DA grave. (4,9)

Os IACHÉ são usados como tratamento de primeira linha para DA. A terapêutica com os IACHÉ é geralmente iniciada após o diagnóstico, com uma dose mais baixa que posteriormente vai sendo aumentada até ser tolerável. Vários estudos foram realizados

com IChE onde se verificou um atraso no declínio da função cognitiva, funcional e comportamental dos doentes. No entanto, os benefícios dos IChE são temporários e diminuem com o passar do tempo podendo durar até um máximo de 12-24 meses. Estes medicamentos não diminuem a taxa de declínio nas capacidades cognitivas ou funcionais a longo prazo. (9,24,26)

A tacrina foi o primeiro fármaco aprovado para o tratamento da DA em 1993. Foi realizado um ensaio clínico aleatório controlado de 30 semanas onde se verificou uma melhoria significativa (em função da dose) na função cognitiva. No entanto, em estudos subsequentes este fármaco mostrou um tempo de semi-vida curto, reações adversas gastrointestinais, má biodisponibilidade oral, tendo sido a sua utilização limitada principalmente devido à sua hepatotoxicidade. (4,5,45)

O donepezilo é um inibidor seletivo e reversível da AChE utilizado no tratamento da DA leve a moderada. Este fármaco está disponível em comprimidos revestidos e orodispersíveis em dosagens de 5 e 10 mg, sendo que o tratamento é normalmente iniciado com 5 mg por dia e depois de várias semanas é aumentado para 10 mg por dia. (24)

Uma dose de 23mg de donepezilo foi recentemente aprovado nos Estados Unidos da América para o tratamento da DA moderada a grave. Num ensaio clínico de fase II este demonstrou um bom perfil de segurança e tolerabilidade que apoiou a sua utilização com base numa relação risco/benefício nos doentes com DA numa fase avançada. (45)

O donepezilo é rapidamente absorvido após a administração oral e em comparação com tacrina possui um tempo de semi-vida maior e é melhor tolerado uma vez que causa menos reações adversas. As reações adversas ao donepezilo são principalmente náuseas, tonturas, diarreia e anorexia, sendo que todas estas são dependentes da dose. Muitos ensaios clínicos realizados afirmam que este fármaco pode eficazmente melhorar o desempenho cognitivo e estabilizar a capacidade funcional dos doentes pacientes. (5,24,44)

A rivastigmina é um derivado carbamato que pode inibir reversivelmente tanto AChE como o BuChE e é utilizado no tratamento da DA leve a moderada. Após a administração oral atinge o seu pico de concentração plasmática passado uma hora. Este fármaco é o único IChE em que a sua metabolização não ocorre por via hepática, através

das isoenzimas do citocromo P450 e deste modo há uma diminuição das interações entre fármacos. (5,24)

O tratamento com rivastigmina normalmente é iniciado com 1,5 mg duas vezes por dia e depois é aumentado ao longo de semanas até 6 mg duas vezes ao dia. Esta é eficaz em melhorar o funcionamento cognitivo e global nos doentes de DA mas a incidência de náuseas e vômitos tornam difícil manter doses terapêuticas elevadas. De forma a evitar estes efeitos adversos, este fármaco está também disponível em sistema transdérmico que fornece uma dose mais baixa que os comprimidos e desta forma apresenta menos efeitos secundários mas eficácia equivalente. A principal desvantagem da utilização da rivastigmina em sistema transdérmico são as reações na pele que podem surgir como o prurido e o eritema, que ocorrem em 7-8% dos doentes de DA. (9,24,26,45)

A galantamina é um inibidor seletivo, competitivo e reversível da AChE utilizado na DA leve a moderada. Ele melhora a disfunção cognitiva e proporciona proteção neuronal, impedindo a citotoxicidade causada pela agregação de A β . (5)

O tratamento com galantamina é normalmente iniciado com a dose de 4 mg e depois pode ser aumentada gradualmente até 12 mg. A galantamina também está disponível na forma de libertação prolongada e a nível de eficácia clínica a galantamina é equivalente ao de donepezilo sendo que ambos são eficazes na melhoria e manutenção da função cognitiva e das atividades da vida diária globais. Os efeitos secundários da galantamina e donepezilo são geralmente leves e podem ser minimizados se estes forem tomados juntamente com alimentos. (45)

De forma geral os fármacos IChE apresentam uma boa tolerabilidade com efeitos adversos resultantes da hiperativação colinérgica periférica, tais como: efeitos gastrintestinais (náuseas, vômitos, diarreia, anorexia, dispepsia, dor abdominal); cardiovasculares (oscilação da pressão arterial, síncope, arritmia, bradicardia) e outros como tonturas, cefaleias, agitação, insónias, câibras, hipersudorese e hipersecreção brônquica. (16,30,44)

A Huperzina A é um alcalóide extraído de uma planta chinesa chamada *Huperzia serrata*. É um inibidor reversível e seletivo da AChE e antagonista do recetor NMDA que pode atravessar a BHE. Este fármaco apresenta uma boa farmacocinética com uma absorção rápida, uma ampla distribuição no corpo e uma taxa de eliminação baixa a moderada. A huperzina A proporciona neuroproteção contra lesões neuronais. Esta

apresenta uma inibição mais forte e melhor seletividade do que a tacrina e a galantamina. (5,45)

A huperzina tem sido investigada durante anos como um possível tratamento para doenças neurodegenerativas em particular a DA. Numa meta-análise realizada em 2013 verificou-se uma melhoria da função cognitiva, condição clínica global e atividades da vida diária em doentes de Alzheimer, pelo que parece ser uma opção terapêutica potencial para DA. No entanto, devido aos poucos ensaios clínicos realizados a huperzina A não deve ser recomendada como um tratamento para DA até que surjam novos estudos de maior qualidade que confirmem os seus efeitos benéficos na doença. (45)

5.2. Antagonista do recetor de N-metil-D-aspartato

O neurotransmissor glutamato localiza-se nas vias neuronais associadas à aprendizagem e memória e deste modo níveis anormais de glutamato podem ser responsáveis pela disfunção de células neuronais e a eventual morte celular e subsequente comprometimento cognitivo observada na DA. (8)

Uma forma de reverter esta situação é bloquear seletivamente os efeitos associados à transmissão anormal do neurotransmissor glutamato, ao mesmo tempo que permite a transmissão fisiológica associada com o funcionamento normal das células. Deste modo surge a memantina como outra opção terapêutica para a DA. (26,30)

A memantina é o único antagonista não-competitivo do recetor NMDA aprovado pela Agência Europeia do Medicamento (EMA) (2002) e pela FDA (2003) para o tratamento da DA moderada a grave. (26,40)

Este medicamento tem afinidade moderada para os recetores NMDA e tem como objetivo proteger os neurónios da atividade da concentração excessiva de glutamato que resulta em excitotoxicidade. Outras propriedades de memantina que também podem ser relevantes na DA incluem a sua capacidade de aumentar a potenciação a longo prazo e a diminuição da hiperfosforilação da proteína tau. (8,24)

Estudos clínicos e meta-análises mostraram que o tratamento com memantina melhora a cognição, sintomas neuropsiquiátricos e comportamentais. Os efeitos adversos

mais frequentes em ensaios clínicos com a memantina foram tonturas, dor de cabeça e confusão. (24,26)

Em um estudo realizado em indivíduos com DA moderada a grave verificou-se que o tratamento combinado de memantina com donepezilo melhorou significativamente a função cognitiva, linguagem, atividades diárias e comportamento em comparação com o placebo. No entanto estes resultados positivos não se verificaram em indivíduos com DA leve a moderada. (3,45)

A memantina é usada clinicamente como tratamento adjuvante dos IChE em fases avançadas da doença, destinada a um modesto benefício sintomático, particularmente nos sintomas neuropsiquiátricos tais como agitação, alterações de humor, e psicose. Tal como os IChE, este medicamento não modifica a progressão da doença, ou altera os seus resultados finais. (4,24,26)

5.3. Tratamentos dos sintomas não cognitivos

À medida que a DA evolui vão surgindo sintomas não cognitivos como sintomas neuropsiquiátricos ou comportamentais que são comuns a todas as fases da doença mas com uma maior prevalência em fases mais avançadas. (4)

Com base em estudos observacionais realizados os sintomas comportamentais mais prevalentes são: a psicose (38% dos doentes por exemplo com delírios), sintomas afetivos (59% dos doentes com por exemplo ansiedade e depressão), hiperatividade (64% dos doentes com por exemplo com agressão e desinibição) e apatia (65% dos doentes). (26,47)

O tratamento com IChE e memantina poderão ter efeitos sobre os sintomas comportamentais mas no entanto quando estes tomam maiores proporções torna-se necessários utilizar outros fármacos em associação como antipsicóticos, anticonvulsivantes, benzodiazepinas e antidepressivos (Tabela 4). (3)

Tabela 4 – Fármacos utilizados para o alívio dos sintomas neuropsiquiátricos ou comportamentais observados em fases avançadas da DA. As classes de fármacos mais frequentemente utilizadas são os antipsicóticos, anticonvulsivantes, antidepressivos e benzodiazepinas. Fonte: (3,26,44) IM – Intramuscular

Fármacos	Sintomas	Dose diária	Efeitos adversos
Antipsicóticos			
Risperidona	Agitação, agressão, insónia, psicoses (halucinações, delírios, desconfiança)	0,25-2mg	Sintomas extrapiramidais, sedação, confusão, dor de cabeça, ganho de peso
Olanzapina		2,5-10mg (oral) 2,5-5mg (IM)	Sintomas extrapiramidais, sedação, confusão, dor de cabeça, ganho de peso, psicoses
Quetiapina		25-200mg	A sedação, ganho de peso, tonturas, sintoma urinário
Haloperidol		0,25-1mg (IM)	A hipotensão, sonolência, sintomas extrapiramidais, discinesia tardia
Anticonvulsivantes			
Carbamazepina	Agitação, agressão	300-600mg	Sedação, confusão, tonturas, ataxia, confusão, náuseas, vômitos
Benzodiazepinas			
Lorazepam	Ansiedade, agitação, agressão	0,5-2mg	Sedação, confusão, tonturas
Antidepressivos			
Citalopram	Depressão, ansiedade, irritabilidade,	10-40mg	Sedação, náuseas, vômitos, boca seca, diarreia, disfunção sexual
Sertralina	agitação, agressão	25-150mg	Sedação, insónias, náuseas, vômitos, boca seca, tonturas, tremor, disfunção sexual
Mirtazapina	Depressão, insónia, anorexia	15-45mg	Sedação, tonturas, dor de cabeça, aumento de apetite, ganho de peso, edema

Os sintomas psicóticos, de agitação e agressão nos doentes de DA são frequentemente tratados com antipsicóticos atípicos como haloperidol, a risperidona, a quetiapina e olanzapina durante um curto prazo de tempo uma vez que estes apresentam reações adversas extrapiramidais quando utilizados a longo prazo. (43,44)

O uso de antipsicóticos foi discutido de forma controversa uma vez que a utilização destes fármacos na DA foi associada a uma morbilidade vascular cerebral e mortalidade mais elevada e também a um agravamento da disfunção cognitiva. Em 2005, a FDA emitiu um alerta de saúde pública sobre um aumento nas taxas de mortalidade em 1,6-1,7 vezes quando usados antipsicóticos para tratar distúrbios comportamentais em pessoas idosas com DA. A partir daí foi então recomendado um esforço na redução da dose dos antipsicóticos a cada 6 meses. (8,24)

Outra classe de fármacos também utilizados para reduzir os sintomas de agitação e agressão na DA são os anticonvulsivantes como a carbamazepina. (44)

Os antidepressivos de primeira linha para o tratamento da depressão na DA são os inibidores seletivos da recaptção da serotonina como a fluoxetina, sertralina, paroxetina, citalopram. Os inibidores seletivos da recaptção da serotonina e noradrenalina como a mirtazapina e venlafaxina são antidepressivos também frequentemente utilizados na DA. Alguns dos efeitos secundários que podem surgir com a utilização destes fármacos são náuseas, vômitos, sedação e boca seca. Estes fármacos poderão ser também utilizados no tratamento da agitação e psicose. (26,45)

As benzodiazepinas como o lorazepam são frequentemente utilizadas para reduzir a agitação e ansiedade na DA no entanto podem apresentar alguns efeitos secundários como sedação, confusão, tonturas. (3,26)

Na utilização dos fármacos antipsicóticos, anticonvulsivantes, benzodiazepinas e antidepressivos no tratamento dos sintomas comportamentais na DA deve-se ter sempre em consideração o fator risco-benefício para o doente. (44)

6. Novas abordagens de fármacos modificadores da Doença de Alzheimer

Atualmente os medicamentos que se encontram em desenvolvimento para a DA destinam-se a modificar as etapas patológicas que conduzem à doença, atuando assim na evolução da doença e sendo assim denominados fármacos modificadores da doença. (8)

Atualmente ainda não existem fármacos modificadores da DA disponíveis. Vários fármacos já foram testados em fase III dos ensaios clínicos mas no entanto ainda nenhum foi aprovado. A causa da falha dos ensaios clínicos com os fármacos modificadores da doença pode ir desde falhas metodológicas e na compreensão fundamental da biologia e fisiopatologia da DA. (46)

Durante as últimas décadas, várias hipóteses têm sido propostas para a patogênese da DA, sendo que a teoria da cascata β -amiloide ($A\beta$) e da hiperfosforilação da tau são as teorias que têm sido mais amplamente aceites. Deste modo as terapias modificadoras da doença em estudo têm como alvos principais a $A\beta$ e a proteína tau e também da inflamação e dos danos oxidativos (Tabela 5). (8,45)

6.1. Abordagens direcionada para a β -amiloide

Um dos principais fatores na patogênese da DA é o excesso de $A\beta$ no cérebro e deste modo a intervenção clínica para reduzir os níveis de $A\beta$ no cérebro tem sido uma abordagem atrativa para o desenvolvimento de terapêuticas modificadoras da doença que tem por base a cascata β -amiloide (Tabela 5). (48)

De forma a alterar a cascata amiloide e conseqüentemente diminuir os níveis de $A\beta$ no cérebro estão a ser desenvolvidos fármacos que atuam em alvos específicos de forma a diminuir da produção de $A\beta$, evitar a agregação de $A\beta$ em placas amiloides e estimular e aumentar da remoção de $A\beta$. Atualmente existem três tipos de abordagens terapêuticas em desenvolvimento que são: os inibidores das secretases (β e γ), os ativadores da α -secretase, os inibidores da agregação de $A\beta$ e a imunoterapia (Tabela 5 e Figura 11). (24,45,48)

Tabela 5 – Estado atual do desenvolvimento clínico de alguns fármacos modificadores da doença para o tratamento da DA. Fonte: (24,26,46) (+) resultados positivos ou promissores (-) resultados negativos ou interrupção do estudo (+-) resultados inconsistentes

Fármacos	Mecanismo de ação	Fase de desenvolvimento
Alvo proteína β – amiloide		
Inibidores não peptídicos	Inibidor da β -secretase	Em modelos animais (+)
CTS-21166	Inibidor da β -secretase	Fase I (+)
Semagacestat	Inibidor da γ -secretase	Fase III (-)
Tarenflurbil	Modelador da γ -secretase	Fase III (-)
Avagacestat	Modelador da γ -secretase	Fase II (decorrer)
Etazolato	Ativador da α -secretase	Fase II (+)
Tramiprosato	Inibidor da agregação de $A\beta$	Fase III (-)
Colostrina	Inibidor da agregação de $A\beta$	Fase II (+-)
Cilo-inositol	Inibidor da agregação de $A\beta$	Fase II (+-)
AN1792	Remoção de $A\beta$ ativa	Fase II (-)
CAD-106	Remoção de $A\beta$ ativa	Fase II (decorrer)
Bapineuzumab	Remoção de $A\beta$ passiva	Fase III (-)
Solanezumab	Remoção de $A\beta$ passiva	Fase III (decorrer)
IVIg	Remoção de $A\beta$ passiva	Fase III (decorrer)
Alvo proteína Tau		
Cloreto de metiltionina	Inibidor da agregação da tau	Fase II (+)
Epotilona D	Inibidor da agregação da tau	Fase I (decorrer)
Lítio	Inibidor da fosforilação da tau	Fase I em MCI (+) Fase I em DA (-)

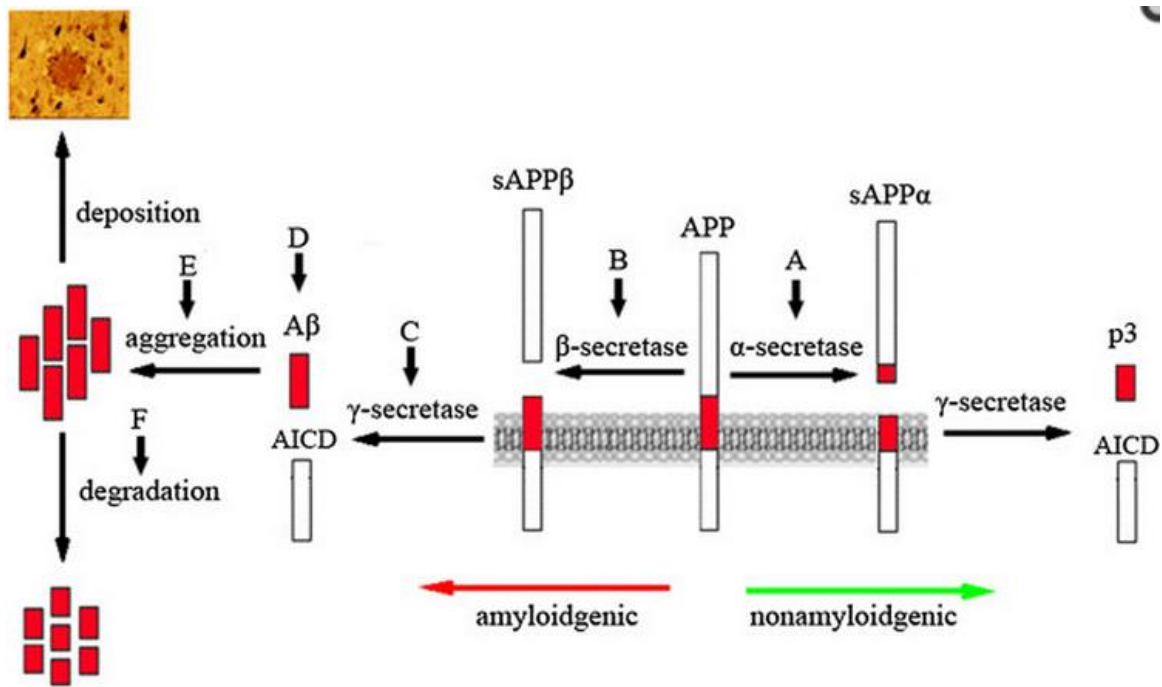


Figura 11 - As estratégias de fármacos modificadores da DA com base na hipótese da cascata amiloide. O processamento da PPA e a produção, agregação e degradação de A β estão representados e os potenciais alvos terapêuticos estão indicados com setas e com letras. A – ativadores da α -secretase; B- inibidores da β -secretase; C- inibidores/moduladores da γ -secretase; D- imunoterapia; E- inibidores da agregação de A β ; F- ativadores da degradação de A β . Fonte: (45)

6.1.1 Terapêutica de redução da produção de A β

A produção de A β resulta do processamento proteolítico de PPA, através de duas clivagens sequenciais pelas enzimas β e γ – secretase. Uma opção terapêutica à DA é a produção de fármacos capazes de diminuir a produção de A β e neste sentido a investigação focou-se na modulação das enzimas secretases envolvidas no processamento de PPA. Teoricamente, através da inibição da atividade da β e γ -secretase e estimulação da atividade da α -secretase pode conduzir a uma diminuição da produção de A β . (46,49)

6.1.1.1. Inibidores das enzimas secretases

6.1.1.1.1. Inibidores da β -secretase

A enzima β -secretase BACE1 é um alvo terapêutico promissor mas no entanto o desenvolvimento de uma terapia com inibidores da BACE1 têm tido alguns problemas. Primeiro a BACE1 para além de participar na clivagem proteolítica da PPA também desempenha outras funções fisiológicas importantes como a clivagem da proteína neuregulina que está envolvida na mielinização dos nervos periféricos. Deste modo, o desenvolvimento de inibidores da BACE1 pode enfrentar problemas de toxicidade relacionados com os efeitos colaterais. (46,50)

Um outro problema associado ao desenvolvimento de inibidores da β -secretase é que o sítio ativo da BACE1 é relativamente grande pelo que compostos de pequenas dimensões são incapazes de a inibir e assim sendo os inibidores teriam de ser moléculas grandes e hidrofílicas. No entanto estas propriedades anteriormente referidas e o transporte de efluxo ativo mediado pela glicoproteína-P representam problemas para a farmacocinética necessários para a penetração da BHE e consequente eficácia terapêutica. (8,26,51)

Deste modo, um bom inibidor da BACE1 deve ser metabolicamente estável, oralmente biodisponível, ter um baixo peso molecular, reduzida suscetibilidade para a glicoproteína-P ou outros transportadores de modo a conseguir uma eficaz penetração da BHE. Além disso devem também ser altamente seletivos de modo a não interferir com outras proteases do ácido aspártico (como a BACE2, a catepsina D) que apresentam uma elevada homologia com o local ativo da BACE1. (48,50,52)

Ao longo dos últimos anos a investigação centrou-se no estudo de inibidores não-peptídicos uma vez que estes apresentam menor tamanho, menor carácter peptídeo, melhor estabilidade metabólica e como as moléculas são pequenas tem uma melhor capacidade de penetração da BHE e um menor transporte de efluxo mediado pela glicoproteína-P. (46,48)

Atualmente novos inibidores β -secretase de origem não-peptídica estão em fase de ensaios clínicos em modelos animais com a perspectiva de resultados promissores.(52)

O CTS-21166 é um inibidor da β -secretase que entrou num ensaio clínico de fase I com jovens saudáveis de forma a avaliar a segurança e a resposta preliminar de A β .

Verificou-se com este ensaio que este inibidor tem mostrado inibir o A β no plasma. O próximo passo será desenvolver inibidores com melhores propriedades farmacêuticas e realizar ensaios clínicos para avaliar a eficácia em doentes com DA. (26,52)

6.1.1.1.2. Inibidores e modeladores da γ -secretase

O desenvolvimento de inibidores da γ -secretase é um alvo promissor para a modificação da doença mas no entanto estes fármacos apresentam problemas relacionados com potenciais efeitos não-específicos. (53)

A γ -secretase é uma enzima complexa composta por quatro proteínas individuais que são a presenilina, nicastrina, APH-1 (*anterior pharynx-defective 1*) e PSEN2 e possui múltiplos locais de clivagem e substratos biológicos essenciais. O PPA é o substrato mais conhecido da γ -secretase, cuja clivagem produz A β mas no entanto esta é também substrato para proteínas do citoesqueleto ou de sinalização, estando envolvido na clivagem intramembranosa de diversas proteínas, incluindo o recetor de Notch, recetor da neurotrofina, N-caderina e a subunidade B4 canal de sódio. (46,53,54)

O recetor Notch é uma proteína transmembranar que é clivada pela γ -secretase para desempenhar as suas funções essenciais relacionadas com a sinalização intracelular e a modulação da diferenciação e proliferação de vários tipos de células em divisão. A administração de um inibidor não seletivo da γ -secretase em ratinhos transgénicos em doses suficientes para reduzir as concentrações A β deu origem a uma anormal diferenciação dos linfócitos e alteração das estruturas das células intestinais (enteropatia mucoide gastrointestinal) uma vez que também foi inibida a sinalização da proteína Notch. (48,55)

O semagacestat é um inibidor não seletivo da γ -secretase e foi o primeiro a ser submetido a ensaios clínicos de fase I, controlado por placebo. Neste ensaio não se observaram efeitos adversos relevantes e o tratamento mostrou reduzir (dependente da dose) as concentrações de A β no plasma mas não no LCR. Nos ensaios clínicos seguintes houve um aumento da dose de semagacestat que fez com os ensaios fossem prematuramente interrompidos na fase III do estudo. Tal facto aconteceu porque os indivíduos que foram tratados com o semagacestat desenvolveram reações adversas graves gastrointestinais, incluindo sangramento e dor abdominal. Estas reações adversas

aconteceram devido à não seletividade do semagacestat que inibiu a via de sinalização do Notch, conduzindo aos efeitos adversos descritos e assim levando à interrupção do estudo. (53,55,56)

Uma grande oposição aos ensaios clínicos com inibidores da γ -secretase foi o facto de estes apresentarem grande toxicidade e assim colocou limitações graves aos ensaios clínicos pelo que mais recentemente começou a ser estudado inibidores seletivos ou modeladores da γ -secretase. A função destes compostos é alterar seletivamente a função da enzima de clivagem do PPA sem alterar a clivagem dos substratos essenciais como o Notch, através de vários mecanismos possíveis. (53)

Ao contrário da estratégia utilizada de inibir a γ -secretase através do bloqueio do local ativo, um mecanismo em estudo é o de bloquear o local de ligação da γ -secretase no substrato (PPA), conduzindo ao bloqueio da clivagem do PPA e não interferindo com a proteína Notch. Um outro mecanismo em estudo consiste em modular em vez de inibir a atividade da γ -secretase, através da ligação não competitiva de modeladores em um local diferente do catalítico da enzima e induzir alterações alostéricas na enzima e assim impedindo a sua ligação ao substrato (PPA). (51,54)

Um grupo de fármacos anti-inflamatórios não esteroides (AINES) foi descoberto para reduzir os níveis de $A\beta_{42}$ através da modelação da via γ -secretase. O tarenflurbil (Flurizan®) que é um R-enantiómero do AINE lurbiprofeno, foi o primeiro fármaco modelador da atividade da γ -secretase e atua ao ligar-se a um outro local diferente do centro ativo da enzima, alterando a conformação da γ -secretase e assim interferindo na clivagem de PPA, produzindo fragmentos menores e não tóxicos de $A\beta$ sem de alguma forma alterar outros substratos essenciais à enzima (por ex. sinalização de Notch). O tarenflurbil não inibe a ciclo-oxigenase I (COX I) ou a ciclo-oxigenase II (COX II) e não está associado a toxicidade gastrointestinal. (53,55)

Em estudos realizados em ratinhos transgénicos, o tarenflurbil mostrou reduzir a acumulação de placas amiloides, melhorou a memória e desempenho comportamental. Posteriormente foram realizados ensaios clínicos com indivíduos com DA leve a moderada, em que no estudo de fase I o fármaco foi bem tolerado, sem evidência de toxicidade gastrointestinal mas no entanto não produziu uma redução significativa de $A\beta_{42}$ no LCR e no plasma. Em ensaios realizados de fase II e fase III mostraram que

houve efeitos positivos na realização das tarefas diárias e globais mas não revelou benefícios no desempenho cognitivo. (56)

Estes resultados colocaram em causa os benefícios da modelação da γ -secretase, bem como a hipótese da cascata amiloide. Uma possível justificação para o fracasso deste estudo é a fraca potência do tarenflurbil como modelador de γ -secretase e uma má distribuição deste composto a nível do SNC. (56)

Atualmente, encontram-se em estudo modeladores da γ -secretase de segunda geração como o avagacestat (BMS-708), o begacestat (GSI-953) e o E2012 (inibidor altamente seletivo da γ -secretase poupador do Notch), o begacestat (GSI-953) e o E2012. (26,53)

O avagacestat é inibidor altamente seletivo da γ -secretase, que já foi testado num ensaio clínico de fase I e observou-se uma diminuição de $A\beta$ no LCR. Neste momento encontra-se num ensaio clínico de fase II. (26,53)

6.1.1.2. Ativadores da α -secretase

Uma outra abordagem terapêutica possível é a estimulação da enzima α -secretase porque uma vez que as enzimas α -secretase e β -secretase competem para o mesmo substrato de PPA, se houver uma maior ativação da α -secretase vai haver uma diminuição do substrato sPPA β disponível para a via amiloidogénica e assim uma diminuição da produção de $A\beta$. Consequentemente há uma maior formação do fragmento solúvel sPPA α que têm propriedades neuroprotetoras e é um estimulante da sinaptogénese. Desta forma a ativação da α -secretase tem um grande potencial terapêutico para a DA. (46,57)

A modulação de vários recetores de membrana neuronal e vias de sinalização intracelulares mostraram modular a atividade de α -secretase. Por exemplo a ativação do recetor de acetilcolina muscarínico do subtipo M1 e M3, que são recetores acoplados à proteína G, vai ativar a fosfolipase C e proteína cinase aumentando a atividade da α -secretase conduzindo a um aumento sAPP α e diminuição da quantidade de $A\beta$. Outros sistemas de recetores que aumentam a atividade da α -secretase incluem, a estimulação do recetor de serotonina 5-HT $_4$, proteínas cinases ativadas por mitogénio e fosfatidilinositol 3-cinase. (45,57,58)

Atualmente ainda não existem muitos compostos que estimulem esta via da α -secretase que tenham chegado a uma fase de estudos em animais e posteriormente ensaios clínicos com doentes de DA como é o caso do etazolato. (46,58)

O etazolato é um ativador da via da α -secretase neurotrófica que promove o alívio sintomático e modifica a progressão da DA. Este composto demonstrou num ensaio clínico de fase II realizado em 159 indivíduos com DA ligeira a moderada ser seguro e bem tolerado. Estes resultados positivos apoiaram o desenvolvimento do etazolato de forma a avaliar a sua eficácia clínica e confirmar a sua tolerabilidade numa amostra maior de pessoas e por um longo período de tempo. (24,57)

6.1.2. Anti-agregantes

Uma outra terapêutica em desenvolvimento para o tratamento da DA consiste na prevenção da agregação de $A\beta$ uma vez que assim é impedido a formação de oligómeros, fibrilas e protofibrilas e por último as placas amiloides que em última instância conduz à neurodegeneração característica da DA. (51)

Atualmente encontram-se em ensaios clínicos vários compostos anti-agregantes como o tramiprosato, colostrinina, clioquinol, PBT2 e cilo-inositol. Os mecanismos de ação destes compostos são variáveis mas ainda não são completamente conhecidos, no entanto pensa-se que possam prevenir a formação de fibrilhas e facilitar a eliminação de $A\beta$ solúvel. (46)

O tramiprosato é um dos anti-agregantes em estudo e pertence à família dos glicosaminoglicanos (GAG) mimetizadores sulfonados. Os GAGs solúveis ligam-se a $A\beta$ solúvel, promovendo a formação de fibrilas e conseqüente deposição em placas amiloides. Deste modo os mimetizadores do GAG evitam a formação de fibrilas e reduzem $A\beta$ solúvel ao competir pelos locais de ligação do GAG. (24,51)

O tramiprosato foi administrado em ratinhos transgênicos e observou-se uma redução da carga de placas amiloides e uma diminuição dos níveis de $A\beta$ no LCR. Posteriormente foi realizado um ensaio clínico de fase I em indivíduos saudáveis onde não foram registados efeitos adversos e deste modo foi mostrada uma boa tolerância do fármaco. Um ensaio de fase II, controlado por placebo foi realizado em 58 pessoas com DA ligeira a moderada onde aleatoriamente receberam diferentes doses de tramiprosato

(50mg, 100mg ou 150mg). Após 3 meses observou-se uma diminuição de 70% dos níveis de A β no LCR dos doentes que receberam as doses de 100 e 150mg, mas no entanto não foram observadas diferenças significativas a nível da cognição entre os doentes placebo e os que receberam tratamento. Um ensaio de fase III realizado em vários centros dos EUA e Canadá recrutou 1052 pessoas com DA leve a moderada, mas no entanto os resultados não determinaram melhoria clínica. (46,51)

A colostrina é um polipéptido derivado do colostro das ovelhas. Num estudo realizado em modelos animais verificou-se que a colostrina inibiu a agregação de A β e melhorou o desempenho cognitivo. Mais tarde realizou-se um ensaio de fase I com indivíduos com DA em que a colostrina mostrou-se tolerável. Num ensaio de fase II realizado durante 12 a 15 meses observou-se um pequeno efeito benéfico a nível cognitivo mas no entanto esse efeito não se manteve com a continuação do tratamento. (26,46)

Alguns metais pesados como o cobre e o zinco ao interagirem com A β promovem a formação de agregados e consequentemente placas amiloides. Estes metais estão presentes em elevadas concentrações nas placas amiloides contribuindo para a sua estabilização. A utilização de agentes quelantes de metais como o clioquinol (PBT1) pode ser uma alternativa eficaz para a dissolução dos depósitos amiloides. (26,46,51)

O clioquinol (PBT1) é um fármaco quelante de cobre, ferro e zinco e é uma possível abordagem terapêutica para DA uma vez que inibe os iões de cobre, zinco e ferro a partir da ligação de A β , aumentando a sua solubilidade e inibindo a sua agregação e deposição. Um ensaio clínico de fase II realizado com 36 pessoas com DA moderada a grave demonstrou que o clioquinol foi bem tolerado e houve uma redução da taxa de declínio cognitivo. Apesar de não ter demonstrado efeitos adversos significativos neste estudo, o clioquinol foi retirado do mercado por provocar neuropatia mielo-óptica. (24,45)

O cilo-inositol é um composto que é capaz de atravessar a BHE e estabilizar os agregados dos oligoméricos de A β inibindo a sua agregação. Este composto foi estudado num ensaio clínico de fase II controlado por placebo onde foi administrado a 353 indivíduos com DA leve a moderada em três doses diferentes (250 mg, 1000mg e 2000mg). Mais tarde, o estudo foi interrompido nos grupos que receberam as doses de 1000 e 2000 mg devido a efeitos adversos graves, incluindo 9 mortes. Relativamente ao grupo que recebeu a dose de 250 mg não se observaram alterações cognitivas e

comportamentais significativas. No entanto a dose de 250mg foi considerada com uma tolerabilidade e segurança aceitáveis. (51)

6.1.3. Remoção de A β

Uma outra abordagem terapêutica modificadora da cascata amiloide é aumentar a eliminação da proteína A β do cérebro. Este tratamento pode ser bastante promissor uma vez que as placas amiloides aparecem antes dos sintomas da DA serem reconhecidos e deste modo a eliminação das placas amiloides cerebrais existentes aquando a DA é diagnosticada oferece um meio potencial para reverter o prejuízo da função cognitiva presente no momento do diagnóstico. (59)

A remoção de A β pode ser conseguida através da ativação das suas enzimas degradantes, através da melhoria dos mecanismos de transporte do cérebro para a circulação periférica e através da remoção direta de A β por ação da resposta imunológica. (24)

As enzimas degradantes de A β mais importantes são a nepresilina (NEP), a enzima degradante da insulina (IDE) e a plasmina. (46)

Relativamente ao transporte de A β pode ser realizado pelo recetor para produtos finais de glicação avançada (RAGE) e pelo recetor de lipoproteína de baixa densidade (LRP-1). O RAGE localiza-se nas células das paredes dos vasos sanguíneos e é responsável pelo transporte de A β dentro do cérebro, enquanto que a LRP-1 é responsável pelo transporte de A β do cérebro para a circulação periférica. Em indivíduos com DA a quantidade de RAGE é elevada enquanto que a de LRP-1 é reduzida, sendo que assim a inibição da RAGE e/ou ativação da LRP-1 pode ser um alvo terapêutico para a DA. Um inibidor de RAGE (PF-04494700) desenvolvido pela Pfizer foi testado num ensaio clínico controlado por placebo de 10 semanas em 55 doentes com DA ligeira a moderada, sendo que este se mostrou tolerável mas inconsistente sobre os níveis plasmáticos de A β e desempenho cognitivo. (24,45)

A imunoterapia é a estratégia terapêutica que tem sido mais ativa e intensamente estudada sendo considerada uma das abordagens mais promissoras para o desenvolvimento de fármacos modificadores da DA, porque pode potencialmente afetar

a produção, agregação e deposição de A β e deste modo diminuir a carga de placas amiloides. (46)

6.1.3.1. Imunoterapia

A Imunoterapia é um tipo de tratamento, que utiliza agentes biológicos que estimulam o sistema imunitário e o ajudam a corrigir os mecanismos de defesa alterados, em caso de doença. (59)

O mecanismo de remoção amiloide através da imunoterapia ainda não está completamente esclarecido, sendo que pelo menos seis mecanismos podem ser responsáveis pela indução da resposta imunológica humoral:

- Desmontagem direta das placas amiloides por anticorpos de conformação seletiva;
- Ativação das células da micróglia induzida por anticorpos e fagocitose de depósitos de proteínas patológicas;
- Ativação da fagocitose pelo não-complemento das células da micróglia;
- Neutralização de oligómeros solúveis tóxicos;
- Mudança no equilíbrio responsável pelo efluxo cerebral de proteínas específicas causando uma diminuição periférica devido à degradação de A β mediada pela resposta imunológica;
- Hidrólise mediada pela imunoglobulina M (IgM). (26,49,60)

As imunoterapias em estudo para a DA são a imunização ativa, com recurso à vacinação e a imunização passiva com recurso a anticorpos monoclonais. (46)

A imunoterapia ativa e passiva foram testadas em ratinhos transgênicos com DA e observou-se uma remoção da placa amiloide e redução da carga amiloide cerebral e melhoria das funções cognitiva e comportamental, especialmente se o tratamento for realizado antes do aparecimento da doença. No entanto, estes resultados traduzindo de forma eficaz e sem toxicidade em seres humanos tem sido um grande desafio. (18,59,60)

6.1.3.1.1. Imunoterapia ativa

A imunização ativa é um tratamento com recurso à vacinação que envolve o sistema imunitário humoral (inclui linfócitos B) e celular (inclui linfócitos T) de forma a promover a produção de anticorpos contra um determinado antigénio, que neste caso é $A\beta$. Uma vacina ativa é normalmente composta por um antigénio (sozinho ou conjugado com um epítipo de um linfócito T *help*) combinado com um adjuvante imunológico de forma a garantir um número elevado de anticorpos. (18)

As vantagens da imunoterapia ativa são o facto de esta induzir a produção a longo prazo de uma grande quantidade de anticorpos e também o facto de ser mais barata e ser necessário menos administrações. No entanto, a vacina ativa apresenta a desvantagem de poder desencadear uma resposta autoimune porque como esta induz uma resposta dos linfócitos T, estas podem reconhecer uma proteína do organismo como sendo um antigénio conduzindo à libertação de citocinas pro-inflamatórias e desencadeando assim uma resposta imunitária prejudicial. Uma outra desvantagem é que para reverter a resposta imunitária induzida pela vacina ativa é necessário algum tempo, podendo assim trazer danos graves para o organismo. (18)

Em 2000 realizou-se o primeiro ensaio clínico (estudo de segurança de fase I) para a vacina ativa AN1792 em 80 indivíduos com DA leve a moderada. Esta vacina anti-amiloide foi formulada com o máximo comprimento do péptido $A\beta_{42}$ em associação com um potente indutor T-*helper* (QS-21) e polissorbato 80 para aumentar a solubilidade do péptido $A\beta_{42}$ e melhorar a estabilidade da vacina. Nesta primeira fase não foram relatados quaisquer efeitos indesejáveis, embora apenas 25% dos doentes terem desenvolvido anticorpos anti- $A\beta$, possivelmente devido à senescência imunológica em indivíduos idosos com DA. (46,49,59)

Em 2001, um estudo de eficácia de fase II em 300 indivíduos com DA leve a moderada foi iniciado, dos quais 80% dos indivíduos foram imunizados com $A\beta_{42}$ com o adjuvante QS21 e os restantes 20% recebeu uma injeção de soro fisiológico. No entanto em 2002 o estudo foi interrompido prematuramente uma vez que 6% dos doentes imunizados com $A\beta$ desenvolveram meningoencefalite. (18,59)

Após a interrupção do estudo os doentes dos ensaios de fase I e II continuaram a ser acompanhados durante anos e observou-se que os benefícios cognitivos clínicos foram pouco significativos no grupo que recebeu a vacina quando comparado com o grupo

placebo. No entanto após morte de alguns indivíduos foram realizadas autópsias onde se observou uma diminuição da carga amiloide. (49)

O surgimento de meningoencefalite nos ensaios realizados pensa-se ter sido devido à utilização do péptido A β em todo o seu comprimento na vacina AN1792 e tal facto conduziu à ativação dos linfócitos T, conduzindo a uma resposta autoimune causando a inflamação das meninges. (18,46)

Deste modo, a investigação centrou-se na criação de vacinas ativas de segunda geração que favorecem uma resposta humoral em vez de uma resposta imune celular, surgindo em 2012 a vacina CAD106. (18,60)

A CAD106 foi a primeira vacina desenvolvida utilizando o segmento N-terminal de A β (segmento mais curto) que não expressa os epítomos dos linfócitos T e assim não ativa estas células. Esta foi testada em primeiro lugar em modelos animais e o resultado foi produção de anticorpos amiloide sem uma resposta dos linfócitos T, uma reduzida acumulação amiloide cerebral, redução dos níveis de A β ₄₀ e A β ₄₂ e ausência de aumento de reações inflamatórias. (59,61)

Em humanos, os ensaios foram realizados em doentes com DA leve a moderada, com um grupo placebo ao longo de um ano. Estes doentes foram monitorizados através de exames de ressonância magnética do cérebro, punções lombares e eletrocardiograma. Com este estudo observou-se que a vacina tinha induzido uma resposta de anticorpo específico de A β em dois terços dos doentes de DA tratados, que era segura, tolerável e não houve efeitos adversos graves atribuíveis à vacinação. (49,61)

Neste momento está em curso um ensaio clínico de fase II da CAD106. Estão também a ser investigados meios alternativos para o desenvolvimento de vacinas de A β de segunda geração incluindo a utilização de outros fragmentos antigénicos de A β , uma segmentação do epítopo do linfócito B, evitando a ativação dos linfócitos T e a utilização de diferentes adjuvantes. (61)

6.1.3.1.2. Imunoterapia passiva

Dadas as reações adversas da imunização ativa, a baixa capacidade de resposta e resposta variável de anticorpos para vacinas em indivíduos mais velhos, a imunização passiva surgiu com uma estratégia imunoterapêutica alternativa. (26,46)

A imunoterapia passiva consiste na injeção direta de anticorpos monoclonais pré-preparados (ou fragmentos destes) a doentes não sendo necessário a estimulação do sistema imunitário para produzir os seus próprios anticorpos. (60)

As principais vantagens que a imunoterapia passiva apresenta são o facto de poder ser suspensa imediatamente caso existam reações adversas e também pode atingir epítomos específicos ou conformações patogénicas sem no entanto perturbar outras proteínas de interesse. (18,46)

As principais desvantagens são que este tratamento tem um custo elevado, uma vez que é necessário produzir anticorpos monoclonais humanizados e requer também várias injeções mensais tornando-se assim menos viável para um tratamento a longo prazo em comparação com a imunização ativa. Outros fatores desfavoráveis são a penetração da BHE, a seleção adequada dos alvos dos antigénios e o facto de que a administração repetida de anticorpos ao longo do tempo pode conduzir à formação de anti-anticorpos, que podem potencialmente ter um efeito neutralizador e podem conduzir a reações adversas como glomerulonefrite e vasculite. (18,62)

Vários estudos de imunização passiva estão a decorrer atualmente mas no entanto os dois ensaios de Fase III mais avançados são dos anticorpos bapineuzumab e solanezumab. (49)

Em 2000, foi demonstrado pela primeira vez que a injeção sistémica de um anticorpo monoclonal A β específico em ratinhos transgénicos resultou na transferência do anticorpo para o cérebro e consequentemente da ligação do anticorpo às placas amiloides e a indução por fagocitose microglial dos depósitos de A β . Este anticorpo foi o precursor para o anticorpo bapineuzumab, que foi testado na Fase I, II e III de ensaios clínicos. (18,49,60)

O bapineuzumab é um anticorpo monoclonal humanizado que se liga com alta afinidade ao terminal N de A β , em particular quando A β já se encontra depositado em placas amiloides. De forma a avaliar a segurança e farmacocinética do bapineuzumab foi

realizado um ensaio clínico controlado por placebo em 30 indivíduos com DA ligeira a moderada onde foram administradas as doses de 0.5, 1.5 e 5.0mg/kg. Os indivíduos tratados com a dose mais elevada desenvolveram microhemorragias e edema vasogénico.(51,61)

Mais tarde foi realizado um ensaio clínico de fase II em 234 indivíduos com DA onde foram administradas as doses de 0.15, 0.5, 1 e 2.0 mg/kg. Neste ensaio verificou-se que o bapineuzumab mostrou reduzir a carga de A β no cérebro de indivíduos com DA leve a moderada mas no entanto ocorreu novamente microhemorragias e edema vasogénico nos indivíduos que receberam as doses mais elevadas e em portadores do alelo ϵ 4 da ApoE.

Deste modo a eficácia e segurança do bapineuzumab parecem estar relacionadas com a presença do alelo ϵ 4 da ApoE. Tendo em conta que em indivíduos portadores do alelo ϵ 4 este fármaco pode favorecer o aparecimento de edema vasogénico, o que limita a sua utilização clínica, foi assim interrompida a utilização da dose mais elevada do fármaco (2 mg/kg). Mais tarde foi realizado um ensaio clínico de fase III onde foram utilizadas as doses mais baixas de bapineuzumab em indivíduos portadores do alelo ϵ 4, enquanto que as doses ligeiramente mais elevadas foram utilização em indivíduos não portadores do alelo. No entanto este ensaio não apresentou benefícios clínicos significativos o que levou à sua interrupção em 2012. (46,51,59,60)

As razões possíveis para a falta de eficácia clínica do bapineuzumab incluem a possibilidade de não ter entrado anticorpo suficiente no cérebro e o tratamento ter sido realizado numa fase tardia da doença e assim não conseguir reverter as alterações neurodegenerativas responsáveis pela perda de memória. (18)

Um outro anticorpo muito estudado e que está em fase III dos ensaios clínicos é o solanezumab. Este anticorpo reconhece epítomos localizado no centro de A β e liga-se às formas solúveis de A β de forma mais eficaz que o bapineuzumab. Tendo por base os efeitos do solanezumab nos níveis plasmáticos e do LCR de A β pensa-se que este atua no A β periférico, alterando o equilíbrio de A β no plasma e LCR e levando ao efluxo de A β para fora do cérebro. (49,60)

Os ensaios de fase I e fase II realizados com o solanezumab foram bem tolerados e sem meningoencefalites. Neste momento está a decorrer um ensaio clínico de fase III com este anticorpo. (47)

A imunoglobulina intravenosa humana (IVIg) contém anticorpos que reconhecem A β e bloqueiam os efeitos tóxicos. Os estudos realizados com a IVIg tem demonstrado potencial terapêutico uma vez que houve um aumento dos níveis plasmáticos e redução dos níveis do LCR de A β . Nesse momento está em curso um ensaio clínico de fase III. (46,60)

6.2. Abordagens direcionadas para a proteína tau

A proteína tau é uma proteína que confere estabilidade aos microtúbulos e que na DA se encontra anormalmente hiperfosforilada e conseqüentemente se vai agregar, levando à formação de ENF que se acumulam nos neurónios. A distribuição e carga da tau está melhor correlacionada com a gravidade da doença do que a carga amiloide. Deste modo, tendo em consideração a importância desta proteína para DA, as terapêuticas com base na modificação da tau estão em investigação, como um alvo alternativo às terapêuticas com base na proteína A β . (46,63)

Os estudos atuais de medicamentos modificadores da proteína tau têm sido direcionados para desenvolver compostos inibidores da fosforilação de tau e compostos que inibem a agregação da tau. (46)

6.2.1. Anti-agregantes da proteína tau

Atualmente encontram-se em desenvolvimento terapêuticas específicas que têm como objetivo inibir a formação de fibrilhas e oligómeros da proteína tau e conseqüentemente inibir a agregação da tau. Existem evidências em estudos realizados de que a agregação da tau pode ser interrompida através de compostos de baixo peso molecular como o cloreto de metiltionina (CMT). (46,63)

O cloreto de metiltionina (CMT), mais conhecido como azul de metileno, é uma composto promissor uma vez que possui propriedades antioxidantes, reduz a oligomerização de A β e interfere com a agregação da tau ao ligar-se ao domínio responsável pela auto-agregação dos fragmentos de tau truncada. (46,64)

Um ensaio clínico de fase II controlado por placebo foi realizado em 321 indivíduos com DA leve ou moderada utilizando as doses de 30 mg, 60 mg ou 100 mg de

CMT durante 24 semanas. Os doentes que receberam a dose de 100 mg de CMT foram excluídos do estudo porque houve uma falha na formulação química que limitou a libertação da forma terapêutica do CMT. Com este estudo foi observado uma diminuição da taxa de progressão da DA em 80% nos indivíduos que receberam o CMT comparativamente com o grupo placebo. (46,64–66)

Apesar dos resultados promissores observados são necessários mais estudos para demonstrar a eficácia e segurança do CMT pelo que se aguarda a aprovação de um ensaio clínico de fase III. (64,65)

A epotilona D (BMS-241027) é um agente estabilizador de microtúbulos que atua através da inibição da desintegração dos microtúbulos de forma a manter a função de transporte do axónio, e por outro lado, evita a formação de agregados de tau. Foram realizados estudos em modelos animais com epotilona D onde se verificou uma diminuição dos défices cognitivos e comportamentais. A epotilona D consegue penetrar a BHE e exercer uma melhor eficácia em baixa concentração e atualmente está a decorrer um ensaio clínico de fase I em indivíduos com DA. (64,66)

A nicotinamida é um composto precursor da coenzima NAD^+ que mostrou em estudos com modelos animais reduzir a fosforilação da tau e proteger a estabilização dos microtúbulos. Este composto foi sujeito a ensaios clínicos com doentes de DA leve a moderada e mostrou ser seguro e bem tolerado pelo que neste momento um ensaio clínico de fase II está em desenvolvimento. (64,66)

6.2.2. Inibidores da hiperfosforilação da tau

A fosforilação da tau é mediada pela atividade das cinases, principalmente pela GSK-3 β , sendo que um aumento da sua atividade conduz à hiperfosforilação da tau. Desta forma uma abordagem terapêutica possível para a DA é inibir as cinases responsáveis pela hiperfosforilação da tau, como o GSK-3 β . (26,65)

Os inibidores do GSK-3 β mais estudados são o lítio e o valproato e tem mostrado reduzir a tau fosforilada em estudos em modelos animais. (24,46)

Uma recente meta-análise realizada com valproato mostrou que este é ineficaz contra a agitação em doentes com demência e também está associado a um grande número de efeitos secundários tais como cataratas, infeções e desordens gastrointestinais. (46)

Relativamente ao lítio tem mostrado ter um efeito neuroprotetor em estudos realizados em modelos animais com DA, não só através da inibição de GSK-3 β , mas também através da redução da produção A β . Através de estudos realizados com lítio em indivíduos com doenças psiquiátricas, como por exemplo doença bipolar, verificou-se que o uso continuado de lítio reduz significativamente o risco de desenvolver DA. (46,65)

Em estudos recentes com lítio em doentes com MCI verificaram-se efeitos positivos uma vez que houve uma redução tanto do declínio cognitivo como da concentração de tau fosforilada no LCR, no entanto quando alargado o estudo a pessoas com DA os resultados não foram positivos uma vez que não houve alteração no desempenho cognitivo. (66)

Para além das abordagens terapêuticas referidas anteriormente a remoção da tau através da imunoterapia foi recentemente considerada uma terapêutica promissora mas ainda se encontra nas fases iniciais em estudos em modelos animais. (64)

6.1. Abordagens anti-inflamatórias e neuroprotetoras

6.1.1. Fármacos anti-inflamatórios não-esteróides

Os fenómenos inflamatórios ocorrem na periferia das placas amiloides, através da acumulação das células microgliais ao redor das placas, reações de citocinas e ativação da cascata do complemento. Evidências epidemiológicas sugerem que o uso prolongado de AINES protege contra o desenvolvimento da DA, sendo este efeito protetor dependente da duração do tratamento. (9,32)

No entanto vários estudos prospetivos com rofecoxib, naproxeno, diclofenac, celecoxib, dapsona, hidroxicloroquina e nimesulina mostraram que estes fármacos não conseguiram retardar a progressão do declínio cognitivo nos doentes de DA leve a moderada. No entanto foi utilizado o mesmo grupo de doentes num estudo com indometacina sendo que neste se observou um atraso do declínio cognitivo mas devido à grande toxicidade gastrointestinal da indometacina limitaram a sua utilização. (67)

Um outro ensaio controlado por placebo realizado com naproxeno e celecoxib em doentes com DA leve a moderado também foi prematuramente interrompido devido a ter ocorrido enfartes do miocárdio e acidente vascular cerebral após um período de tratamento de dois anos em alguns doentes em estudo. No final do estudo verificou-se que o naproxeno e celecoxib não conseguiam reduzir a incidência de DA após dois anos de tratamento. No entanto uma avaliação de seguimento de quatro anos dos indivíduos que participaram no estudo mostrou que os indivíduos expostos ao naproxeno foram protegidos do aparecimento de DA em 67% comparativamente ao grupo placebo. No entanto os AINES não são considerados como opções viáveis para o tratamento de DA uma vez que estes são pouco seguros e toleráveis. (46,67)

6.1.2. Inibidores da HMG-CoA redutase

O metabolismo e transporte de colesterol e a deposição de A β estão relacionados, estando o excesso de colesterol cerebral associado ao aumento da formação e deposição de A β . (46)

Os inibidores da HMG-CoA redutase (estatinas) são fármacos utilizados para reduzir o colesterol e acredita-se que estes tenham propriedades neuroprotetoras, imunomoduladoras e antioxidantes. (47)

Estudos realizados *in vitro* mostraram que uma dieta rica em colesterol aumentava o processamento de β -secretase de PPA enquanto que a redução do colesterol através das estatinas diminuía a produção de A β . Tal facto veio apoiar a hipótese de que as estatinas podem ser um tratamento promissor da DA. (24,68)

Um estudo piloto realizado com atorvastatina durante 12 meses em indivíduos com DA leve a moderada mostrou haver benefícios globais, cognitivos e comportamentais. Posteriormente foi realizado um ensaio de fase II controlado por placebo com a atorvastatina em 63 indivíduos com DA leve a moderada durante um ano. O tratamento com atorvastatina foi associado a uma diminuição da taxa de declínio cognitivo, comparativamente com o grupo placebo. (45)

No entanto estes resultados não são consistentes uma vez que em outros estudos realizados com outras estatinas não se observou alteração do declínio cognitivo. As inconsistências entre os estudos são difíceis de ser explicadas podendo dever-se a vários

fatores como: a utilização de diferentes testes cognitivos, o período de tratamento diferente, o delineamento experimental diferente e a utilização de diferentes fases da doença sendo que a resposta das estatinas também será diferente. (46,68)

Um fator importante para a discrepância entre os resultados entre os estudos *in vitro* e nos humanos pode ser devido ao facto da dosagem das estatinas utilizada nos ensaio clínicos ser muito menor do que nas culturas *in vitro*. Embora o efeito das estatinas sobre a produção de A β seja incerto a associação entre o colesterol e a DA ainda é suportada por muitos estudos. Deste modo existe uma necessidade de realizar ensaios clínicos de grande escala onde tanto o metabolismo do colesterol e do PPA sejam seguidos durante e após o tratamento. (8,24)

6.1.3. Vitaminas e antioxidantes

Com o envelhecimento verifica-se um aumento do stress oxidativo que vai provocar danos a nível da função celular e assim ser um fator de desenvolvimento da DA. Deste modo considerou-se que os antioxidantes poderiam ter potencial na terapêutica de redução dos danos induzidos pelos radicais livres, provenientes do aumento do stress oxidativo. (31)

As vitaminas E (alfa-tocoferol), vitamina C e beta caroteno são potentes antioxidantes que se encontram atualmente em estudo. Um estudo realizado com vitamina E durante 3 anos em indivíduos com DA com alterações moderadas do comportamento não revelou qualquer melhoria da função cognitiva. Numa meta-análise realizada posteriormente observou-se haver alterações da função cardíaca associada a um aumento da mortalidade após a administração doses altas de vitamina E e desta forma a vitamina E perdeu o seu potencial como estratégia terapêutica. (69)

O ginkgo biloba pode ter propriedades antioxidantes e anti-plaquetárias. Este foi estudado em vários ensaios clínicos mas no entanto ainda não existem resultados consistentes em relação a este reduzir o risco da DA e melhorar o desempenho cognitivo. Apesar de não ter sido comum foram relatadas reações adversas ao ginkgo biloba como graves hemorragias e também uma tendência para interação medicamentosa. (70)

Outros compostos são promissores a nível dos benefícios cognitivos, principalmente a partir de estudos animais como é o caso da coenzima Q₁₀, da curcumina

Novas abordagens no desenvolvimento de fármacos modificadores da Doença de Alzheimer

e catequinas e polifenóis do chá verde. No entanto são necessário a realização de ensaios clínicos para avaliar a utilização destes compostos em doentes de DA. (69,70)

7. Conclusão

O crescente envelhecimento da população a nível mundial ao longo do último século demonstra o sucesso dos cuidados de saúde mas em contrapartida o número de doenças neurodegenerativas relacionadas com a idade tem aumentado como é o caso da DA. Este grande aumento na prevalência torna esta doença um problema de saúde pública a nível mundial que tem trazido e continuará a trazer grandes consequências a nível económico, político e social.

Os fármacos aprovados atualmente para a DA são IChE e o antagonista do recetor de glutamato NMDA no entanto estes não alteram a progressão da doença, apenas diminuem a severidade dos seus sintomas pelo que deste modo se torna necessário investir na investigação científica de modo a desenvolver fármacos que modifiquem a DA travando a sua progressão.

Apesar das grandes melhorias na compreensão da patogénese da doença que foram feitas ao longo últimas décadas, a DA é considerada uma doença multifatorial pelo que se torna difícil definir um mecanismo (os) exato (os) para o desenvolvimento da doença. Das várias hipóteses que têm sido propostas para a patogénese da DA, a teoria da cascata β -amiloide e da hiperfosforilação da tau são as teorias que têm sido mais amplamente aceites. Deste modo as terapias modificadoras da doença em estudo têm como alvos principais a proteína $A\beta$ e a proteína tau.

Atualmente ainda não existem fármacos modificadores da DA disponíveis, apesar de vários fármacos já terem sido testados em fase III dos ensaios clínicos mas no entanto ainda nenhum foi aprovado. Os fármacos como o tarenflurbil, o tramiprosate e semagacestat foram ineficazes nos estágios clínicos finais dos ensaios e outros fármacos como avagacestat, o etazolato, o CAD-106, o solanezumab, a IVIg, o cloreto de metiltionina e o lítio ainda estão a ser testados em ensaios clínicos avançados.

A causa da falha dos ensaios clínicos com os fármacos modificadores da doença podem ir desde falhas metodológicas a uma compreensão insuficiente da biologia e fisiopatologia da DA. Outras causas apuradas ao longo dos ensaios realizados foram a fraca tolerabilidade de alguns fármacos que provocaram reações adversas graves levaram à interrupção do tratamento, problemas relacionados com os perfis farmacocinéticos e farmacodinâmicos dos compostos testados que não permitiram que este penetrasse a BHE

e desempenhasse o seu efeito, duração de tempo e amostra do ensaio e a fase da doença em que foi realizado o ensaio.

Em conclusão, é de grande importância continuar a investigação de modo a ampliar e aprofundar a compreensão da fisiopatologia da DA, percebendo melhor a relação entre a proteína A β , proteína tau e outros fatores que desencadeiam a doença. As terapias de combinação de fármacos com alvos diferentes ou fatores de modificação (por exemplo, de A β , tau, e a apoE4) são uma hipótese a considerar. Devem ser realizados mais estudos de forma a desenvolver melhores biomarcadores da doença que serão úteis tanto a nível do diagnóstico como da realização dos ensaios clínicos.

O desenvolvimento de fármacos modificadores de DA não tem sido fácil devido à grande complexidade da doença e à dificuldade de desenvolver fármacos com boas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas. No entanto os esforços a nível da investigação devem ser continuados de forma a encontrar um tratamento efetivo, que atue a nível da progressão da DA.

8. Referências bibliográficas

1. EU Joint Programme – Neurodegenerative Disease. What is neurodegenerative disease? [Em linha]. JPND. 2014 [Consult. 2015 Mar 23]. Disponível na Internet: <http://www.neurodegenerationresearch.eu/about/what/>
2. Taipa R, Pinho J, Melo-Pires M. Clinico-pathological correlations of the most common neurodegenerative dementias. *Front Neurol*. 2012 Jan;3:68.
3. Dalvi A. Alzheimer’s Disease. *Dis Mon*. 2012 Dec;58(12):666–77.
4. Castellani RJ, Rolston RK, Smith MA. Alzheimer Disease. *Dis Mon*. 2010 Sep;56(9):484–546.
5. Xiaoting S, Jin L, Ling P. Review of drugs for Alzheimer’s disease. *Drug Discov Ther*. 2012;6(6):285–90.
6. Mu Y, Gage FH. Adult hippocampal neurogenesis and its role in Alzheimer’s disease. *Mol Neurodegener*. 2011 Jan;6:85.
7. Dong S, Duan Y, Hu Y, Zhao Z. Advances in the pathogenesis of Alzheimer’s disease: a re-evaluation of amyloid cascade hypothesis. *Transl Neurodegener*. BioMed Central Ltd; 2012 Jan 21;1(1):18.
8. Galimberti D, Scarpini E. Disease-modifying treatments for Alzheimer’s disease. *Ther Adv Neurol Disord*. 2011;4(4):203–16.
9. Chu LW. Alzheimer’s disease: early diagnosis and treatment. *Hong Kong Med J*. 2012;18(3):228–37.
10. Alzheimer’s Disease International. Relatório sobre a Doença de Alzheimer no Mundo. 2009.
11. Sosa-Ortiz AL, Acosta-Castillo I, Prince MJ. Epidemiology of Dementias and Alzheimer’s Disease. *Arch Med Res*. Elsevier Inc; 2012;43(8):600–8.
12. Chen JH, Lin KP, Chen YC. Risk Factors for Dementia. *J Formos Med Assoc*. Formosan Medical Association & Elsevier; 2009;108(10):754–64.
13. World Health Organization. Dementia: a public health priority. World Health Organization. Reino Unido; 2012.

14. Associação Alzheimer Portugal. Plano Nacional de Intervenção Alzheimer. 2009.
15. Fița IG, Enciu A-M, Stănoiu BP. New insights on Alzheimer's disease diagnostic. *Rom J Morphol Embryol*. 2011 Jan;52(3 Suppl):975–9.
16. Anderson SH. Alzheimer Disease [Em linha]. Medscape. 2015 [Consult. 2015 Mar 23]. Disponível na Internet: <http://emedicine.medscape.com/article/1134817-overview>
17. Morris JK, Honea RA, Vidoni ED, Swerdlow RH, Burns JM. Is Alzheimer's disease a systemic disease? *Biochim Biophys Acta*. 2014 Sep;1842(9):1340–9.
18. Lemere CA. Immunotherapy for Alzheimer's disease: hoops and hurdles. *Mol Neurodegener. Molecular Neurodegeneration*; 2013;8(1):36.
19. Perl DP. Neuropathology of Alzheimer's Disease. *Mt Sinai J Med*. 2010;77(1):32–42.
20. Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT. Neuropathological Alterations in Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2011;1(1):1–24.
21. Alves L, Correia ASA, Miguel R, Alegria P, Bugalho P. Alzheimer's disease: A clinical practice-oriented review. *Front Neurol*. 2012;3:1–20.
22. Faria L. Cérebros resistentes à doença de Alzheimer? [Em linha]. 2014 [Consult. 2015 Mar 23].
23. Mayeux R, Stern Y. Epidemiology of Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012 Jan 1;2(8).
24. Tayeb HO, Yang HD, Price BH, Tarazi FI. Pharmacotherapies for Alzheimer's disease: Beyond cholinesterase inhibitors. *Pharmacol Ther. Elsevier Inc.*; 2012;134(1):8–25.
25. Niedowicz DM, Nelson PT, Murphy MP. Alzheimer's Disease: Pathological Mechanisms and Recent Insights. *Curr Neuropharmacol*. 2011;9(4):674–84.
26. Yiannopoulou KG, Papageorgiou SG. Current and future treatments for Alzheimer's disease. *Ther Adv Neurol Disord*. 2013 Jan;6(1):19–33.

27. Iqbal K, Liu F, Gong CX. Alzheimer disease therapeutics: Focus on the disease and not just plaques and tangles. *Biochem Pharmacol.* Elsevier Inc.; 2014;88(4):631–9.
28. Kolarova M, García-Sierra F, Bartos A, Rícný J, Ripova D. Structure and Pathology of Tau Protein in Alzheimer Disease. *Int J Alzheimers Dis.* 2012.
29. Martín L, Latypova X, Terro F. Post-translational modifications of tau protein: Implications for Alzheimer's disease. *Neurochem Int* Elsevier Ltd; 2011;58(4):458–71.
30. Dale MM., Rang HP., Ritter JM., Flower RJ., Henderson G. *Farmacologia.* 7º Edição. Elsevier Editora, editor. Rio de Janeiro; 2012. 494-496; 503-511 p.
31. Pohanka M. Alzheimer's disease and Oxidative Stress: A Review. *Curr Med Chem.* 2013;21(3):356–64.
32. Cai Z, Zhao B, Ratka A. Oxidative stress and b-amyloid protein in Alzheimer's disease. *NeuroMolecular Medicine.* 2011. p. 223–50.
33. Honjo K, Black SE, Verhoeff NPLG. Alzheimer's Disease, Cerebrovascular Disease, and the β – amyloid Cascade. *Le Jounal Can das Sci Neurol.* 2012;39:712–28.
34. Morley JE, Farr SA. The role of amyloid-beta in the regulation of memory. *Biochem Pharmacol.* Elsevier Inc.; 2014;88(4):479–85.
35. Pákási M, Kálmán J. Interactions between the amyloid and cholinergic mechanisms in Alzheimer's disease. *Neurochem Int.* 2008;53(5):103–11.
36. Schifilliti D, Santamaria LB, Rosa G, Di Nino G, Mandal PK, Fodale V. Cholinergic central system, Alzheimer's disease, and anesthetics liaison: A vicious circle? *J Alzheimer's Dis.* 2010;22(SUPPL. 3):35–41.
37. Martorana A, Esposito Z, Koch G. Beyond the cholinergic hypothesis: Do current drugs work in Alzheimer's disease? *CNS Neurosci Ther.* 2010;16(4):235–45.
38. Revett TJ, Baker GB, Jhamandas J, Kar S. Glutamate system, amyloid β peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology. *J psychiatry Neurosci.* 2013 Jan [cited 2015 Jan 12];38(1):6–23.

39. Campos-Peña V, Meraz-ríos MA. Alzheimer Disease: The Role of A β in the Glutamatergic System. *Neurochemistry*. Cidade do México: Intech; 2014.
40. Esposito Z, Belli L, Toniolo S, Sancesario G, Bianconi C, Martorana A. Amyloid β , Glutamate, Excitotoxicity in Alzheimer's Disease: Are We on the Right Track? *CNS Neurosci Ther*. 2013;19(8):549–55.
41. Han J-Y, Han S-H. Primary Prevention of Alzheimer's Disease: Is It an Attainable Goal? *J Korean Med Sci*. 2014;29(7):886–92.
42. Reitz C, Mayeux R. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem Pharmacol*. Elsevier Inc.; 2014;88(4):640–51.
43. Imtiaz B, Tolppanen A-M, Kivipelto M, Soininen H. Future directions in Alzheimer's disease from risk factors to prevention. *Biochem Pharmacol*. Elsevier Inc.; 2014;88(4):661–70.
44. Dipiro JT, Dipiro C V., Schwinghammer TL, Wells BG. *Pharmacotherapy Handbook*. 7^o Edição. Mc Graw Hill Medical; 2009. 727-734 p.
45. Hong-Qi Y, Zhi-Kun S, Sheng-Di C. Current advances in the treatment of Alzheimer's disease: focused on considerations targeting A β and tau. *Transl Neurodegener. Alzheimer's Research & Therapy*; 2012;1(1):21.
46. Salomone S, Caraci F, Leggio GM, Fedotova J, Drago F. New pharmacological strategies for treatment of Alzheimer's disease: Focus on disease modifying drugs. *Br J Clin Pharmacol*. 2012;73(4):504–17.
47. Huang Y, Mucke L. Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies. *Cell*. 2012 Mar 16;148(6):1204–22.
48. Ghosh AK, Brindisi M, Tang J. Developing β -secretase inhibitors for treatment of Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2012;120(SUPPL. 1):71–83.
49. Wisniewski T, Goñi F. Immunotherapy for Alzheimer's disease. *Biochem Pharmacol*. 2014;88(4):499–507.
50. Ghosh AK, Osswald HL. BACE1 (b-secretase) inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *R Soc Chem. Royal Society of Chemistry*; 2014;43:6765–813.

51. Schenk D, Basl GS, Pangalos MN. Treatment Strategies Targeting Amyloid β -Protein. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012;
52. Menting KW, Claassen J a HR. β -secretase inhibitor; a promising novel therapeutic drug in Alzheimer's Disease. Front Aging Neurosci. 2014;6(JUN):1–20.
53. Tate B, McKee TD, Loureiro RMB, Dumin JA, Xia W, Pojasek K, et al. Modulation of Gamma-Secretase for the Treatment of Alzheimer's Disease. Int J Alzheimers Dis. 2012;2012.
54. Golde TE, Koo EH, Felsenstein KM, Osborne B a., Miele L. γ -Secretase inhibitors and modulators. Biochim Biophys Acta - Biomembr. Elsevier B.V.; 2013;1828(12):2898–907.
55. Wolfe MS. Inhibition and Modulation of γ -Secretase for Alzheimer's Disease. Neurotherapeutics. 2009;5(2):158–64.
56. Crump CJ, Johnson DS, Li Y-M. Development and Mechanism of γ -Secretase Modulators for Alzheimer Disease. Biochemistry. Nova Iorque; 2013.
57. Postina R. Activation of alfa-secretase cleavage. J Neurochem. 2012;120(SUPPL. 1):46–54.
58. Lichtenthaler SF. Alpha-secretase in Alzheimer's disease: Molecular identity, regulation and therapeutic potential. Journal of Neurochemistry. 2011. p. 10–21.
59. Weksler ME, Gouras G, Relkin NR, Szabo P. The immune system , amyloid- β peptide , and Alzheimer ' s disease. Immunol Rev. 2005;205:244–56.
60. Morgan D. Immunotherapy for Alzheimer's Disease. J Intern Med. 2011;269(1):54–63.
61. Lambracht-Washington D, Rosenberg RN. Advances in Development of Vaccines for Alzheimer's Disease. Discov Med. 2013;84(15):319–26.
62. Lannfelt L, Relkin NR, Siemers ER. Amyloid- β -directed immunotherapy for Alzheimer's disease. J Intern Med. 2014;275(3):284–95.
63. Schneider A, Mandelkow E. Tau-based treatment strategies in neurodegenerative diseases. Neurotherapeutics. 2008;5(3):443–57.

64. Jia Q, Deng Y, Qing H. Potential Therapeutic Strategies for Alzheimer's Disease Targeting or Beyond β -Amyloid: Insights from Clinical Trials. *Biomed Res Int.* 2014;2014:837157.
65. Götz J, Ittner A, Ittner LM. Tau-targeted treatment strategies in Alzheimer's disease. *Br J Pharmacol.* 2012;165(5):1246–59.
66. Wischik CM, Harrington CR, Storey JMD. Tau-aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease. *Biochem Pharmacol.* Elsevier Inc.; 2014;88(4):529–39.
67. Côté S, Carmichael P-H, Verreault R, Lindsay J, Lefebvre J, Laurin D. Nonsteroidal anti-inflammatory drug use and the risk of cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2012;8(3):219–26.
68. McGuinness B, O'Hare J, Craig D, Bullock R, Malouf R, Passmore P. Statins for the treatment of dementia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;(8):CD007514.
69. Feng Y, Wang X. Antioxidant therapies for Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2012.
70. Mecocci P, Polidori MC. Antioxidant clinical trials in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* Elsevier B.V.; 2012;1822(5):631–8.
71. Delrieu J. *CNS Drugs.* 2011;25(3):221–6.
72. Doença de Alzheimer e Tratamento Fisioterápico [Em linha]. 2009 [Consult. 2015 Mar 10]. Disponível na Internet: <https://fisioterapiaportoalegre.wordpress.com/area-de-atuacao/fisioterapia-neurofuncional/doenca-de-alzheimer-e-tratamento-fisioterapico/>
73. Chemistry RS of. Probing protein aggregation. Royal Society of Chemistry. [Em linha]. 2009 [Consult. 2015 Set 1]. Disponível na Internet: <https://www.rsc.org>