



**UAAlg**

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

para a doença de Alzheimer

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Ciências e Tecnologias

**Novas abordagens de tratamento para a doença de  
Alzheimer**

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Joana dos Santos Baptista

Trabalho efetuado sob a orientação da

Professora Doutora Ana Isabel Azevedo Serralheiro

2019

Novas abordagens de tratamento para a doença de Alzheimer

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Ciências e Tecnologias

**Novas abordagens de tratamento para a doença de  
Alzheimer**

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Joana dos Santos Baptista

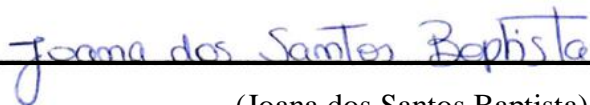
Trabalho efetuado sob a orientação da  
Professora Doutora Ana Isabel Azevedo Serralheiro

2019

# **Novas abordagens de tratamento para a 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.



---

(Joana dos Santos Baptista)

**Copyright© 2019 Joana dos Santos Baptista**

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.

## **Agradecimentos**

Os meus agradecimentos são dirigidos a todos que tornaram, de alguma forma, possível a concretização desta tese.

Desde já aos meus pais, que foram os principais contribuidores, pelo apoio, sacrifícios e incentivo, e também ao meu irmão que nunca me deixou a pé!

Aos amigos e amigas que fiz durante o curso e que foram essenciais para ultrapassarmos todos os desafios juntos e que me ajudaram a manter os pés no chão na altura em que mais precisei.

À minha restante família que esteve lá sempre que precisei, assim como a todos aqueles amigos de todas as horas.

Quero também agradecer à minha orientadora, por todo o trabalho e tempo despendido e por todas as valiosas contribuições ao longo desta monografia.

Por fim quero dedicar esta monografia a todas as minhas estrelinhas no céu, principalmente a uma que sei que onde quer que esteja, está muito orgulhoso de tudo aquilo que superei e de mim também.

## Resumo

A doença de Alzheimer é uma das formas de demência mais comuns, representando cerca de 60 a 80% dos casos, tendo constituído a 7<sup>a</sup> principal causa de morte em 2016, de acordo com a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico.

De facto, a par de um envelhecimento continuado da população, assiste-se a um aumento gradual da prevalência da doença de Alzheimer, assumindo atualmente o carácter de uma “epidemia” a nível mundial. Neste contexto, afigura-se importante o desenvolvimento de novos fármacos modificadores da doença, de modo a evitar que esta atinja estadios mais graves que afetem de forma determinante a vida social e as capacidades cognitivas do doente.

Esta doença caracteriza-se pela presença de marcadores patológicos específicos, nomeadamente, emaranhados neurofibrilares de proteína tau fosforilada e por placas senis compostas de proteína  $\beta$  amilóide, que conduzem à conseqüente neurodegeneração. A perda significativa e progressiva de neurónios está na base do desenvolvimento da doença cuja manifestação clínica se traduz no aparecimento dos primeiros sintomas, como a perda de memória e a incapacidade de realizar as atividades quotidianas.

Os últimos anos têm sido ricos no que concerne à realização de ensaios clínicos na área farmacoterapêutica da doença de Alzheimer, dos quais resultaram a aprovação de cinco fármacos para o tratamento sintomático da doença: quatro inibidores da acetilcolinesterase (tacrina, donezepilo, rivastigmina e galantamina) e, mais recentemente, um antagonista do recetor N-metil-D-aspartato (memantina). Porém, têm também existido resultados muito desanimadores, uma vez que muitos ensaios, na sua maioria de fase II/III, foram necessariamente interrompidos devido à ocorrência de efeitos adversos graves ou por falta de evidência de efetividade.

Neste contexto, é providencial a descoberta de novas moléculas, assim como de novos alvos terapêuticos que sejam efetivos para o tratamento da doença, mas para isso é necessário ter um maior conhecimento e compreensão da sua fisiopatologia.

**Palavras chave:** doença de Alzheimer; demência; proteína  $\beta$  amilóide; proteína tau fosforilada; neurodegeneração; tratamento; novas terapêuticas.

## Abstract

Alzheimer's disease is one of the most common forms of dementia, accounting about 60 to 80% of the cases, and it was the 7<sup>th</sup> leading cause of death in 2016 according to the Organization for Economic Cooperation and Development.

In fact, alongside with the continued aging of the population, there is a gradual increase in the prevalence of Alzheimer's disease, and is now becoming a worldwide "epidemia". In this context, the development of new disease-modifying drugs is important in order to prevent the disease from reaching more severe stages that affect the social life and cognitive abilities of the patient.

This disease is characterized by the presence of specific pathological markers, namely neurofibrillary tangles of phosphorylated tau protein and senile plaques composed of  $\beta$  amyloid protein, which lead to consequent neurodegeneration. The significant and progressive loss of cholinergic neurons underlies the development of the disease, whose clinical manifestation is the onset of early symptoms such as memory loss and inability to perform daily activities.

Recent years have been rich in clinical trials in the pharmacotherapeutic field of Alzheimer's disease, resulting in the approval of five drugs for symptomatic treatment of the disease: four acetylcholinesterase inhibitors (tacrine, donepezil, rivastigmine and galantamine) and, more recently, an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist (memantine). However, there have also been very discouraging results, as many trials, mostly at phase II/III, have necessarily been discontinued due to serious adverse effects or lack of evidence of effectiveness.

Thus, the discovery of new molecules, as well as new therapeutic targets that are effective for the treatment of the disease are still required, but it is also necessary to have a better knowledge and understanding of its pathophysiology.

**Keywords:** Alzheimer's disease; dementia;  $\beta$  amyloid protein; phosphorylated tau protein; neurodegeneration; treatment; new therapeutics.

## Índice

1. Introdução.....	1
2. Epidemiologia da doença .....	3
3. Fatores de risco .....	5
3.1. Fatores de Risco.....	5
3.1.1. Fatores de risco não modificáveis .....	5
3.1.1.1. Apolipoproteína E .....	5
3.1.1.2. Recetor <i>triggering</i> expresso nas células mielóides .....	6
3.1.1.3. Proteína precursora de $\beta$ -amilóide e Presenilinas 1 e 2.....	6
3.1.1.4. Síndrome de Down.....	6
3.1.1.5. Idade .....	6
3.1.2. Fatores de risco modificáveis .....	7
3.1.2.1. Hipertensão arterial .....	7
3.1.2.3. Diabetes <i>Mellitus</i> Tipo II.....	7
3.1.2.4. Obesidade .....	9
3.1.2.5. Tabagismo .....	9
3.1.2.6. Hipercolesterolemia .....	9
3.1.2.7. Traumatismo cranioencefálico.....	10
3.1.3. Fatores protetores .....	10
3.1.3.1. Dieta .....	10
3.1.3.2. Atividade física .....	11
3.1.3.3. Educação.....	11
4. Doença de Alzheimer.....	13
4.1. Tipos de Doença de Alzheimer .....	14
4.2. Achados patológicos na DA .....	15
4.3. Alterações cerebrais .....	16
4.4. Hipóteses fisiopatológicas para a DA .....	17
4.4.1. Hipótese da cascata amilóide .....	17
4.4.2. Hipótese da proteína tau.....	19
4.4.3. Hipótese colinérgica .....	20
4.4.4. Hipótese glutamatérgica.....	22
4.4.5. Stress oxidativo e hipótese mitocondrial .....	22
4.4.6. Hipótese inflamatória.....	23
5. Terapêuticas usadas para a doença de Alzheimer .....	25
5.1. Inibidores da acetilcolinesterase.....	25

5.2.	Antagonistas dos recetores N-metil-D-aspartato.....	28
5.3.	Tratamento dos sintomas não cognitivos .....	29
5.3.1.	Antidepressivos .....	29
5.3.2.	Antipsicóticos.....	30
5.3.3.	Anticonvulsivantes .....	30
5.3.4.	Benzodiazepinas .....	31
6.	Estratégias terapêuticas futuras .....	32
6.1.	Terapêuticas que têm como alvo a P $\beta$ A.....	32
6.1.1.	Moduladores da $\beta$ secretase .....	32
6.1.2.	Inibidores/ Moduladores da $\gamma$ secretase .....	35
6.1.3.	Aumento da <i>clearance</i> da P $\beta$ A.....	38
6.1.4.	Imunoterapia .....	39
6.2.	Terapêuticas que têm como alvo a proteína tau .....	42
6.2.1.	Imunoterapia direcionada à proteína tau.....	42
6.2.2.	Bloqueio da fosforilação da proteína tau .....	45
6.2.3.	Estabilizadores dos microtúbulos .....	46
6.2.4.	Inibição da agregação da PTF .....	48
6.3.	Outras estratégias de tratamento.....	49
6.3.1.	Antioxidantes .....	49
6.3.2.	Anti-inflamatórios não esteróides.....	49
6.3.3.	Inibidores das fosfodiesterases.....	50
6.3.4.	Sistema endocanabinóide.....	50
6.3.5.	Antidiabéticos.....	51
6.3.6.	Estatinas .....	52
6.3.7.	Quelantes metálicos .....	52
6.3.8.	Inibidores da BuChE.....	53
6.3.9.	Terapias multialvo .....	53
6.	Discussão.....	55
7.	Conclusão .....	57
8.	Referências bibliográficas .....	58

## Índice de figuras

<b>Figura 4.1.</b> Diferentes estadios da doença de Alzheimer e as principais alterações cerebrais subjacentes a cada estadio.....	14
<b>Figura 4.2.</b> Diferenças entre um cérebro afetado pela doença de Alzheimer e um cérebro normal, em que se pode observar uma perda de células cerebrais acentuada no cérebro afetado pela DA.....	16
<b>Figura 4.3.</b> Hipótese da cascada amiloide, em que a sobreprodução da proteína $\beta$ amiloide conduz à formação de placas senis e conseqüentemente a inúmeras alterações a nível cerebral.....	18
<b>Figura 4.4.</b> Hipótese da proteína tau- O desequilíbrio entre as fosfatases e as quinases promove a hiperfosforilação da proteína tau, levando à destabilização dos microtúbulos neuronais, e conseqüentemente à formação dos EN.....	19
<b>Figura 4.5.</b> Efeitos sobre os níveis de Ach num cérebro com DA e noutro sujeito ao tratamento com AChEIs, em que no cérebro com DA se verifica uma quantidade reduzida de Ach, já quando se inicia o tratamento com AChEIs a Ach vai aumentar na fenda sináptica.....	21
<b>Figura 4.6.</b> Processo de neuro-inflamação na DA. A ativação das células da glia e dos astrócitos promove a produção de mediadores inflamatórios e de radicais livres que vão atuar sobre os neurónios, conduzindo à sua morte.....	24
<b>Figura 6.1.</b> Estruturas moleculares de vários inibidores da BACE-1 alvo de ensaios clínicos.....	33
<b>Figura 6.2.</b> Estrutura molecular do Semagacestat.....	35
<b>Figura 6.3.</b> Estrutura molecular do Avagacestat.....	36
<b>Figura 6.4.</b> Estrutura molecular do Azeliragon.....	38
<b>Figura 6.5.</b> Exemplos de alguns inibidores da PDE5.....	50

## Índice de tabelas

<b>Tabela 2.1.</b> Dados e indicadores de mortalidade a nível nacional para a demência no ano de 2017.....	3
<b>Tabela 2.2.</b> Dados e indicadores de mortalidade a nível nacional para a Doença de Alzheimer no ano de 2017.....	4
<b>Tabela 3.1.</b> Fatores modificadores do risco da doença de Alzheimer.....	12
<b>Tabela 5.1.</b> Fármacos AChEIs aprovados em Portugal para o tratamento da DA.....	27
<b>Tabela 5.2.</b> Fármacos AnNMDAR aprovados em Portugal para o tratamento da DA...	29

## Índice de quadros

<b>Quadro 6.1.</b> Quadro resumo das moléculas inibidoras da BACE-1.....	35
<b>Quadro 6.2.</b> Quadro resumo das moléculas inibidoras/moduladoras da $\gamma$ secretase...	37
<b>Quadro 6.3.</b> Quadro resumo das moléculas com capacidade de aumentar a clearance da P $\beta$ A.....	38
<b>Quadro 6.4.</b> Quadro resumo das moléculas testadas como imunoterapia ativa anti-P $\beta$ A.....	40
<b>Quadro 6.5.</b> Quadro resumo das moléculas testadas como imunoterapia passiva anti-P $\beta$ A.....	42
<b>Quadro 6.6.</b> Quadro resumo das moléculas testadas como imunoterapia anti-tau.....	44
<b>Quadro 6.7.</b> Quadro resumo das moléculas testadas com objetivo de bloquear a fosforilação da proteína.....	46
<b>Quadro 6.8.</b> Quadro resumo das moléculas testadas estabilizadoras dos microtúbulos.....	47
<b>Quadro 6.9.</b> Quadro resumo das moléculas testadas com capacidade de inibir a agregação da PTF.....	48

## Lista de abreviaturas

- Ac- Anticorpos;
- Ach- Acetilcolina;
- AChase- Acetilcolinesterase;
- Acm- Anticorpos monoclonais;
- ADN- Ácido desoxirribonucleico;
- AChEs- Inibidores da acetilcolinesterase;
- AINEs- Anti-inflamatórios não esteroides;
- AnNMDAR- Antagonistas dos recetores N-metil-D-aspartato;
- APP- Proteína precursora de amiloide;
- ApoE- Apolipoproteína E;
- ARIA- Anormalidades imagiológicas relacionadas com a proteína  $\beta$  amiloide;
- AVC- Acidente Vascular Cerebral;
- BACE-  $\beta$  secretase;
- BHE- Barreira hematoencefálica;
- BuChE- Butirilcolinesterase;
- ChAT- Colina acetiltransferase;
- COX- Ciclo-oxigenase;
- DA- Doença de Alzheimer;
- DM II- Diabetes *Mellitus* tipo II;
- EDI- Enzima degradante da insulina;
- EMA- *European Medicines Agency*;
- EN- Emaranhados neurofibrilares de proteína tau fosforilada;
- FDA- *Food and Drug Administration*;
- GSK3 $\beta$ - *Glycogen synthase kinase 3 beta*;
- HMGCoA redutase- 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA redutase;
- ISRS- Inibidores seletivos da recaptção de serotonina;
- LCR- Líquido cefalorraquidiano;
- mAChRs- Recetores muscarínicos de acetilcolina;
- MGS- Moduladores da  $\gamma$  secretase;

nAChRs- Recetores nicotínicos de acetilcolina;  
NMDARs- Recetores N-metil-D-aspartato;  
NPL- Neprilisina;  
P $\beta$ A- Proteína  $\beta$ -amilóide;  
P $\beta$ A<sub>1-42</sub>- Proteína  $\beta$  amilóide 1-42;  
P $\beta$ A<sub>1-40</sub>- Proteína P $\beta$ A amilóide 1-40;  
PP2A- *Protein phosphatase 2*;  
PSEN 1 e PSEN 2- Presenilinas 1 e 2;  
PT- Proteína tau;  
PTF- Proteína tau fosforilada;  
RI- Recetores de insulina;  
SRAA- Sistema renina-angiotensina-aldosterona;  
SNC- Sistema nervoso central;  
SRI- Substrato do recetor de insulina;  
SRI-1- Substrato do recetor de insulina 1;  
TCE- Traumatismo cranioencefálico;  
TNF $\alpha$ - Fator de necrose tumoral;  
TREM 2- Recetor *triggering* expresso nas células mieloides;

## 1. Introdução

A demência é um síndrome clínico associado a várias doenças neurológicas, e caracteriza-se pela deterioração progressiva das capacidades cognitivas e funcionais do indivíduo <sup>[1]</sup>. A causa mais comum de demência é a doença de Alzheimer (DA), que representa 60% a 80% dos casos, mas outras doenças apresentam sintomas semelhantes, como a demência vascular, a demência com corpos de Lewy e a doença de Parkinson <sup>[2,3]</sup>.

Em 2018, estimava-se que 9.1 milhões de pessoas, com mais de 60 anos, viviam com demência nos países membros da União Europeia, mas mundialmente afeta, aproximadamente, 47 milhões de pessoas, sendo que em 2050, estima-se que o número triplicará <sup>[1,2]</sup>.

A DA é uma doença com uma fase pré-clínica e pródroma bastante longa, ou seja, a doença pode causar alterações cerebrais até 20 anos antes de aparecerem os primeiros sintomas evidentes da doença, e geralmente, apresenta uma duração clínica de 8 a 10 anos <sup>[1]</sup>.

Existem inúmeros fatores de risco para a DA, sendo que os fatores de risco relacionados com o estilo de vida, incluem a diabetes, obesidade, inatividade física e mental e um baixo nível educacional <sup>[4]</sup>. Já os fatores de risco genéticos passam por alterações genéticas em alguns genes que codificam para a apolipoproteína E (ApoE), para a proteína precursora de  $\beta$ -amilóide (APP), para as presenilinas 1 e 2 (PSEN 1 e PSEN 2) e para o recetor *triggering* expresso nas células mielóides (TREM 2) <sup>[5]</sup>.

Os principais achados neuropatológicos da DA consistem em placas extracelulares formadas por proteína  $\beta$ -amilóide (P $\beta$ A) e emaranhados neurofibrilares de proteína tau fosforilada (EN) responsáveis pelos processos neurodegenerativos que levam ao desenvolvimento dos principais sintomas da DA, como a perda progressiva de memória e as dificuldades cognitivas <sup>[1]</sup>.

Atualmente, a fisiopatologia da DA ainda não é conhecida, sendo que existem múltiplas hipóteses apresentadas com base nos vários fatores que podem causar esta patologia multifatorial, como a hipótese da cascata amilóide e a hipótese da proteína tau, sendo que estas são as hipóteses mais comuns <sup>[6, 7]</sup>. Existem ainda outras hipóteses que têm em conta a inflamação cerebral, o stress oxidativo e a hipótese colinérgica <sup>[6]</sup>.

Presentemente nenhuma das terapias usadas para o tratamento da DA consegue atrasar a perda progressiva de neurónios e das capacidades cognitivas, sendo que os medicamentos aprovados apenas aliviam os sintomas da doença <sup>[8]</sup>. Os fármacos usados são inibidores da acetilcolinesterase (AChEIs) e os antagonistas dos recetores N-metil-D-aspartato (NMDA) <sup>[1]</sup>. Os AChEIs são os medicamentos mais usados para o tratamento sintomático da DA, sendo eles o donepezilo, a galantamina e a rivastigmina. Para quadros de DA mais graves pode-se recorrer à memantina como alternativa, que é um antagonista dos recetores NMDA <sup>[9]</sup>.

Com vista à obtenção de um fármaco com potencial modificador da DA, têm sido investigadas e desenvolvidas novas estratégias de tratamento <sup>[6]</sup>. A grande maioria apresenta como alvo terapêutico a P $\beta$ A e a proteína tau fosforilada (PTF) <sup>[6]</sup>. No entanto, a inibição da fosforilação da proteína tau, a modulação das enzimas secretases, a vacinação, a imunoterapia e a terapêutica com quelantes metálicos, entre outras, são metodologias que têm vindo a despertar um interesse crescente, merecendo um especial destaque <sup>[10]</sup>.

## 2. Epidemiologia da doença

A DA foi reconhecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma das grandes prioridades de saúde pública, uma vez que apesar de cada vez mais se aprofundar o conhecimento sobre a patogenia da doença, ainda não existem fármacos modificadores da doença <sup>[9]</sup>.

Em 2018 estimava-se que, mundialmente, 47 milhões de pessoas viviam com demência, perspetivando-se o aumento deste número para o triplo em 2050, devido ao continuado envelhecimento da população mundial <sup>[1]</sup>. Nos próximos anos prevê-se que a demência irá apresentar uma maior prevalência em países em desenvolvimento, que atualmente têm populações mais jovens, comparativamente aos países da Europa Ocidental e os Estados Unidos da América (EUA), que, atualmente, apresentam uma população mais envelhecida <sup>[4]</sup>.

A DA é a principal causa de demência, representando cerca de 60%-80% dos casos, sendo mais prevalente em idosos a partir dos 65 anos <sup>[2,11]</sup>. Em 2016, a DA e outras demências, representavam a 5ª principal causa de morte a nível mundial <sup>[2,11]</sup>.

Em Portugal, no ano de 2017, foram registadas, aproximadamente, 3900 mortes devido a demência (Tabela 2.1.), representando cerca de 3,5% da mortalidade do país <sup>[12]</sup>. De entre os óbitos declarados, a maioria foi representada por indivíduos do sexo feminino, registando-se cerca de 57,0 óbitos masculinos por cada 100 femininos, o que corresponde a uma taxa de mortalidade no sexo feminino de 45,1 por 100 000 habitantes <sup>[12]</sup>. Relativamente à idade, a preponderância dos óbitos foi registada em pessoas com 75 ou mais anos <sup>[12]</sup>.

**Tabela 2.1.:** Dados e indicadores de mortalidade a nível nacional para a demência no ano de 2017. Adaptado de [12].

Causa de morte: Demência	HM	H	M
Total de óbitos (Nº)	<b>3839</b>	<b>1394</b>	<b>2445</b>
Idade média à morte (Nº anos)	<b>85,7</b>	<b>84,6</b>	<b>86,4</b>
Óbitos (Nº) com 75 e mais anos	<b>3615</b>	<b>1270</b>	<b>2345</b>
Taxas brutas de mortalidade (por 100 000 habitantes)	<b>37,3</b>	<b>28,6</b>	<b>45,1</b>

**Nota:** Os resultados estatísticos relativos a 2017 foram obtidos com base na informação do Sistema de Informação dos Certificados de Óbito disponível até 5 de dezembro de 2018.

HM- homens e mulheres; H- homens; M- mulheres

Já no que diz respeito a óbitos devido a DA (Tabela 2.2.) foram contabilizadas 1569 mortes, sendo que esta causa representava 1,4% da mortalidade no país, atingindo um número mais elevado de mulheres comparativamente a homens, com evidência de uma relação entre géneros de cerca de 48,7 óbitos masculinos por cada 100 óbitos no sexo feminino <sup>[12]</sup>.

De todos os óbitos devido à DA, 92% ocorreram em pessoas com 75 ou mais anos <sup>[12]</sup>. A mortalidade devido a DA resultou numa taxa bruta de mortalidade de 15,3 óbitos por 100 mil habitantes, registando-se um valor mais elevado para as mulheres do que para os homens <sup>[12]</sup>.

**Tabela 2.2.:** Dados e indicadores de mortalidade a nível nacional para a Doença de Alzheimer no ano de 2017. Adaptado de [12].

Causa de morte: Doença de Alzheimer	HM	H	M
Total de óbitos (Nº)	<b>1569</b>	<b>514</b>	<b>1055</b>
Idade média à morte (Nº anos)	<b>84,3</b>	<b>83,1</b>	<b>84,9</b>
Óbitos (Nº) com 75 e mais anos	<b>1446</b>	<b>461</b>	<b>985</b>
Taxas brutas de mortalidade (por 100 000 habitantes)	<b>15,2</b>	<b>10,5</b>	<b>19,4</b>

**Nota:** Os resultados estatísticos relativos a 2017 foram obtidos com base na informação do Sistema de Informação dos Certificados de Óbito disponível até 5 de dezembro de 2018.

HM- homens e mulheres; H- homens; M- mulheres

### **3. Fatores de risco**

#### **3.1. Fatores de Risco**

Pensa-se que a DA tem um desenvolvimento multifatorial, principalmente devido a fatores de risco genéticos, ambientais e ligados ao estilo de vida, todavia a idade constitui o fator de risco mais preponderante <sup>[13]</sup>.

Os fatores de risco para a DA podem ser classificados em modificáveis e não modificáveis, o que nos permite determinar quais os indivíduos com maior predisposição para o desenvolvimento da doença <sup>[5]</sup>.

Entre os fatores não modificáveis encontram-se os de natureza genética, uma vez que existem vários genes que aumentam o risco do desenvolvimento da DA <sup>[5]</sup>. As principais influências genéticas na DA correspondem a mutações na ApoE, na APP e nas PSEN 1 e PSEN 2 <sup>[5]</sup>.

##### **3.1.1. Fatores de risco não modificáveis**

Uma pequena parte dos casos da DA resulta de mutações em genes específicos <sup>[14]</sup>. Estas mutações envolvem genes da APP, da PSEN 1 e PSEN 2 e do TREM2, sendo que os indivíduos com mutações nestes genes geralmente desenvolvem os primeiros sintomas da doença antes dos 65 anos, e em casos mais raros, aos 30 anos <sup>[14,15]</sup>. Os três primeiros genes são responsáveis por afetar diretamente a produção ou a clivagem da P $\beta$ A, ao passo que o gene que codifica para o TREM2 vai contribuir para o agravamento da inflamação cerebral <sup>[15]</sup>. Desta forma, estes genes estão intimamente associados ao desenvolvimento da DA precoce, também designada de DA familiar <sup>[15,16]</sup>.

##### **3.1.1.1. Apolipoproteína E**

A ApoE é uma proteína com 3 isoformas, sendo que a sua principal função no cérebro é o transporte de colesterol aos neurónios <sup>[5]</sup>. A variante ApoE- $\epsilon$ 3 é a mais comum, estando presente em 60% da população e não acarreta nenhum risco para o desenvolvimento da DA <sup>[5]</sup>. Porém, a variante ApoE- $\epsilon$ 4, confere um risco acrescido ao desenvolvimento da DA, quer o indivíduo se manifeste heterozigota ou homozigota <sup>[5]</sup>. Em aproximadamente 40% dos casos da DA em geral, a variante ApoE- $\epsilon$ 4 está presente, sendo que os portadores desta isoforma tendem a desenvolver a DA significativamente

mais cedo que os portadores da isoforma ApoE- $\epsilon$ 3, apesar de não aparecer nunca antes dos 65 anos [5, 13].

### **3.1.1.2. Recetor *triggering* expresso nas células mielóides**

As variantes heterozigotas no alelo TREM2, apesar de raras, estão associadas a um aumento do risco de desenvolvimento da DA, tendo um papel importante no que concerne à neuroinflamação, já que estas mutações levam a alterações na inflamação cerebral e na *clearance* da proteína amilóide [17].

### **3.1.1.3. Proteína precursora de $\beta$ -amilóide e Presenilinas 1 e 2**

A DA familiar pode também ser causada por mutações na APP e nas PSEN 1 e PSEN 2 [5]. A APP está codificada no cromossoma 21, e mutações no gene codificante para a APP podem conduzir a um aumento da produção da P $\beta$ A, ou levar a uma maior suscetibilidade de agregação desta proteína [13, 18]. Já as PSEN 1 e PSEN 2 constituem o centro ativo da  $\gamma$ -secretase, que é uma protease responsável pela produção da P $\beta$ A [5]. Mutações nestas duas proteínas irão interferir com a atividade desta enzima, e desta forma promover o aumento da produção de P $\beta$ A [5].

### **3.1.1.4. Síndrome de Down**

A Síndrome de Down, também designada de Trissomia 21, caracteriza-se por uma alteração genética no cromossoma 21, resultando em 3 cópias deste cromossoma [13]. Como a APP é codificada por este cromossoma, os indivíduos afetados por esta síndrome vão igualmente apresentar um incremento anormal da expressão da APP, com o consequente aumento da produção da P $\beta$ A [5, 13]. Esta produção em excesso da P $\beta$ A é considerada a principal causa do aparecimento da DA em doentes com Síndrome de Down, sendo que geralmente, nestes casos, o início da sintomatologia ocorre em idades mais jovens do que em pessoas que não sofrem deste síndrome [5].

### **3.1.1.5. Idade**

Dentro dos fatores de risco não modificáveis, está também incluída a idade, que constitui o principal fator de risco para o desenvolvimento da DA [14]. A incidência de casos de DA aumenta drasticamente com a idade, verificando-se que a maioria das pessoas com esta doença apresenta 65 anos de idade ou mais, sendo que esta faixa etária é representativa de 10-30% dos casos de DA; [13,14] por cada 10 anos após os 60 anos a incidência da DA duplica [13,14].

### **3.1.2. Fatores de risco modificáveis**

Existem ainda alguns fatores que dependem do comportamento do doente e que podem ser modificados, de entre os quais se incluem o estilo de vida do doente, os hábitos tabágicos, a hipertensão arterial, a obesidade, a diabetes e a prática de exercício físico [13].

A prática regular de exercício físico, associada a uma dieta equilibrada, e a um controlo eficaz dos fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, nomeadamente a diabetes, a hipertensão arterial, o colesterol elevado, a obesidade e os hábitos tabágicos, contribui para um risco reduzido de desenvolvimento da DA [13,14].

#### **3.1.2.1. Hipertensão arterial**

A hipertensão arterial está intimamente ligada a um declínio cognitivo e por sua vez associada a um maior risco de desenvolvimento da DA [5]. O processo responsável pelo aumento do risco de desenvolvimento da DA não está completamente esclarecido, porém pensa-se que se relacione com os danos provocados a nível vascular com repercussões a nível neuronal [14, 19]. Anteriormente julgava-se que a hipertensão levava à consequente acumulação de P $\beta$ A, porém vários estudos já demonstraram que não existe uma relação entre estes dois fenómenos, indicando que a hipertensão contribui para o desenvolvimento da DA através de processos independentes da P $\beta$ A, como o agravamento da neurodegeneração [19].

Existem também algumas evidências de que o cérebro possui o seu próprio sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), que funciona de forma independente do SRAA periférico [20]. O SRAA, tanto o cerebral como o periférico, funcionam através da libertação da renina, responsável pela clivagem do angiotensinogénio em angiotensina I [20, 21]; por sua vez a angiotensina I é clivada pela enzima conversora de angiotensina, levando à formação, no cérebro, de várias isoformas de angiotensina [20, 21, 22]. Estas isoformas vão contribuir para a hipertensão neurogénica e para além disto a angiotensina II (uma das isoformas) vai inibir o crescimento celular e a diferenciação celular, conduzindo à apoptose [20, 21, 22].

#### **3.1.2.3. Diabetes *Mellitus* Tipo II**

A diabetes *Mellitus* tipo II (DM II) é uma patologia que está também associada a um aumento do risco do desenvolvimento da DA, na medida em que o declínio cognitivo

característico desta doença pode potencialmente contribuir para o desenvolvimento da DA [5,23].

Existem inclusivamente estudos que indicam que a probabilidade de desenvolver a DA é duas vezes superior em doentes diabéticos, comparativamente com indivíduos sem a patologia [24].

A ligação entre estas duas patologias ainda não está completamente esclarecida, porém pensa-se que os principais mecanismos envolvidos são a hiperglicemia, deficiências vasculares, processo amilóide alterado e deficiências na sinalização da insulina [25].

Nos doentes com diabetes observa-se caracteristicamente um hipometabolismo generalizado da glucose [25]. A hiperglicemia daí resultante e a reduzida metabolização cerebral da glucose, poderá constituir um fator predisponente para a DA [25,26].

A DM tipo II está intimamente ligada a alterações na microvasculatura cerebral incluindo a angiopatia amilóide [25]. Adicionalmente, encontra-se comumente associada a um aumento dos enfartes cerebrais com a consequente atrofia do cérebro, levando a uma diminuição do seu volume tanto pela perda de células da glia e axónios como pela redução de matéria branca, induzindo um impacto significativo no desenvolvimento da DA [25].

Já no que concerne às deficiências na sinalização da insulina, a relação estabelecida entre a DM tipo II e a DA envolve o fenómeno de insulinoresistência [25]. Julga-se que a alteração mais importante na sinalização da insulina em doentes com Alzheimer passa pela redução das quantidades do substrato do recetor de insulina (SRI), acompanhada de um aumento do substrato do recetor de insulina 1 (SRI-1) fosforilado na serina, e que corresponde a um marcador de insulinoresistência [25, 26]. Sabendo que a insulina no cérebro tem um papel importante no comportamento cognitivo, a desregulação na sinalização da insulina pode eventualmente ser responsável pelas alterações cognitivas que se verificam na DA [25,26].

Alguns estudos demonstraram a ligação entre a sinalização da insulina e a cascata amilóide, o que pode explicar o risco aumentado do desenvolvimento da DA em doentes com diabetes [25, 26]. Assim, no cérebro afetado pela DA existem baixas quantidades da enzima degradante de insulina (EDI), que é responsável não só pela degradação da insulina, mas também pela *clearance* e degradação da P $\beta$ A [25,26]. Para além disto, a

insulina também regula a via da fosforilação da proteína tau <sup>[25]</sup>. Neste sentido, num cérebro insulinoresistente poderá ocorrer uma maior acumulação de proteína tau fosforilada (PTF) e de produtos glicosados, assim como de P $\beta$ A, contribuindo para o risco acrescido de desenvolvimento de DA <sup>[25]</sup>.

#### **3.1.2.4. Obesidade**

A obesidade é também um dos fatores de risco modificáveis para o desenvolvimento da DA, cujos mecanismos responsáveis ainda estão por elucidar <sup>[27]</sup>; porém acredita-se que possam estar relacionados com o fenómeno de insulinoresistência, uma maior incidência de DM tipo II nesta subpopulação e também com a possibilidade de desenvolvimento de síndrome metabólico <sup>[27, 28]</sup>. Para além disto, a obesidade é de igual modo considerada um fator de risco para alterações cognitivas, sem que exista necessariamente DA, uma vez que a gordura central (acumulação de gordura abdominal) é um fator de risco para o declínio cognitivo e a gordura visceral está associada a uma diminuição da performance da memória verbal e da atenção <sup>[28]</sup>.

#### **3.1.2.5. Tabagismo**

O tabagismo está associado a um maior risco da DA, sendo que o mecanismo fisiopatológico subjacente parece estar ligado com o aumento do metabolismo colinérgico <sup>[26]</sup>. Ao existir uma alteração da regulação dos recetores colinérgicos de nicotina, irá igualmente ocorrer um aumento do stress oxidativo, em resultado do aumento da produção de radicais livres no cérebro <sup>[27]</sup>. Por seu turno, estes radicais livres irão afetar a resposta imunológica, exercendo uma ação estimulante sobre os fagócitos e conseqüente aumento dos danos oxidativos <sup>[27]</sup>.

Adicionalmente o prolongado stress oxidativo no cérebro pode conduzir a um aumento da P $\beta$ A e da fosforilação da proteína tau, que são dois fatores patológicos importantes na DA <sup>[29]</sup>.

#### **3.1.2.6. Hipercolesterolemia**

Um estudo recente determinou que níveis elevados de colesterol durante a meia-idade e nos anos iniciais da velhice está associado a um maior risco do desenvolvimento da DA <sup>[30]</sup>. Foi demonstrado que níveis elevados de colesterol no sangue conduziam a um aumento na produção de P $\beta$ A, que é uma das principais alterações observadas na DA <sup>[30]</sup>.

Existe ainda um gene relacionado com o colesterol, a clusterina, também conhecido como apolipoproteína J (ApoJ), presente no colesterol de elevada densidade (HDL), cuja presença contribui para o aumento o risco de desenvolvimento da DA, uma vez que está também presente nas placas senis e vai contribuir para a agregação da P $\beta$ A [30, 31].

### **3.1.2.7. Traumatismo cranioencefálico**

Comparativamente aos indivíduos que não têm um histórico de trauma, os indivíduos que sofreram um traumatismo cranioencefálico (TCE) evidenciam um risco superior de desenvolver a DA, e dentro dos que sofreram um TCE, os homens são aqueles que apresentam maior suscetibilidade [27, 32].

A ligação entre o TCE e a DA ainda não está completamente esclarecida, porém julga-se que possa estar potencialmente inerente ao aumento frequente dos níveis cerebrais de P $\beta$ A, da APP e da PTF após um TCE [32].

### **3.1.3. Fatores protetores**

Com o intuito de compreender a ligação existente entre a saúde coronária e cerebral, vários investigadores determinaram que os fatores protetores de patologias cardíacas, como por exemplo a atividade física e uma dieta equilibrada, também se manifestavam igualmente benéficos em doenças do foro neuronal [14].

#### **3.1.3.1. Dieta**

No que concerne à dieta equilibrada deve-se dar primazia a um maior consumo de frutas, legumes, cereais integrais, peixe, frango, frutos secos, com preferência pelas nozes, e limitar o consumo de carnes vermelhas, açúcares e gorduras saturadas [14]. Existem ainda evidências que a dieta Mediterrânica está diretamente associada a uma menor incidência da DA [33]. Inclusivamente, está extensamente descrito que a dieta cetogénica apresenta propriedades neuroprotetoras, na medida em que os corpos cetónicos compensam a redução da absorção da glucose no cérebro, e desta forma ultrapassam o défice energético cerebral [33, 34]. Porém são necessários estudos adicionais para demonstrar até que ponto é que tal facto poderá influenciar ou prevenir os sintomas da DA, como por exemplo a cognição [34].

### 3.1.3.2. Atividade física

Existem evidências de que a atividade física confere neuroproteção por meio da inibição da produção da P $\beta$ A e aumento da sua *clearance* cerebral, porém, ainda não foi estabelecido qual o desporto específico, a duração e a frequência da prática desportiva que está associada a um menor risco de desenvolvimento da DA [14].

A prática de natação, corrida, desportos de resistência e aeróbicos parece contribuir em maior escala para o menor risco de desenvolvimento da DA, porém são necessárias ainda mais evidências em seres humanos [35].

### 3.1.3.3. Educação

Está descrito que as pessoas com uma maior educação, ou seja, com mais anos de formação têm um menor risco de desenvolver DA ou outras demências comparativamente com aqueles que apresentam menos anos de formação educacional [14]. Alguns estudos defendem que a explicação para tal se prende com o facto de o cérebro criar uma “reserva cognitiva”, adquirindo a capacidade de fazer um uso eficiente e flexível do seu *network* cognitivo [14].

O número de anos educacionais não é o único determinante cognitivo; ter um trabalho mentalmente estimulante, e a prática de outras atividades que estimulem o cérebro, também são importantes para a reserva cognitiva [14].

Numerosos estudos exploraram o impacto de atividades de lazer no desenvolvimento da DA, tendo-se verificado que atividades de comunidade, tais como o voluntariado, e a jardinagem, são atividades protetoras da demência [27]. A participação em atividades intelectuais, como a leitura, jogos de tabuleiro, sudoku, dança e tocar um instrumento musical, estão associados a um risco reduzido da incidência de demências, e o mesmo se aplica ao convívio social, como por exemplo visitar amigos ou parentes [27].

Toda esta informação descrita encontra-se sistematizada na Tabela 3.1. no final deste capítulo.

**Tabela 3.1.:** Fatores modificadores do risco da doença de Alzheimer. Adaptado de [27].

<b>Fatores modificadores</b>	<b>Efeito</b>	<b>Possíveis mecanismos</b>
<i>Tabagismo</i>	Aumenta	Efeitos cerebrovasculares Stress oxidativo
<i>Hipertensão</i>	Aumenta	Alterações microvasculares
<i>Diabetes Mellitus tipo II</i>	Aumenta	Efeitos cerebrovasculares Insulinorresistência e diminuição da <i>clearance</i> da P $\beta$ A
<i>Obesidade</i>	Aumenta	Maior risco de DM tipo II
<i>TCE</i>	Aumenta	Aumento de P $\beta$ A e de APP
<i>Educação</i>	Diminui	Aumenta “reserva cognitiva”
<i>Atividades de lazer</i>	Diminui	Estimulação cerebral
<i>Dieta Mediterrânea</i>	Diminui	Antioxidante e anti-inflamatório
<i>Atividade física</i>	Diminui	Plasticidade e vascularização cerebral
<p><b>P<math>\beta</math>A:</b> Proteína <math>\beta</math> amilóide; <b>DM:</b> Diabetes <i>Mellitus</i>; <b>APP:</b> Proteína precursora de amilóide.</p>		

## 4. Doença de Alzheimer

No início do século XX, Alois Alzheimer, um psiquiatra alemão, identificou pela primeira vez a doença de Alzheimer numa doente com 55 anos e patologia cerebral desconhecida, ao observar a presença de placas senis e emaranhados neurofibrilares [36, 37].

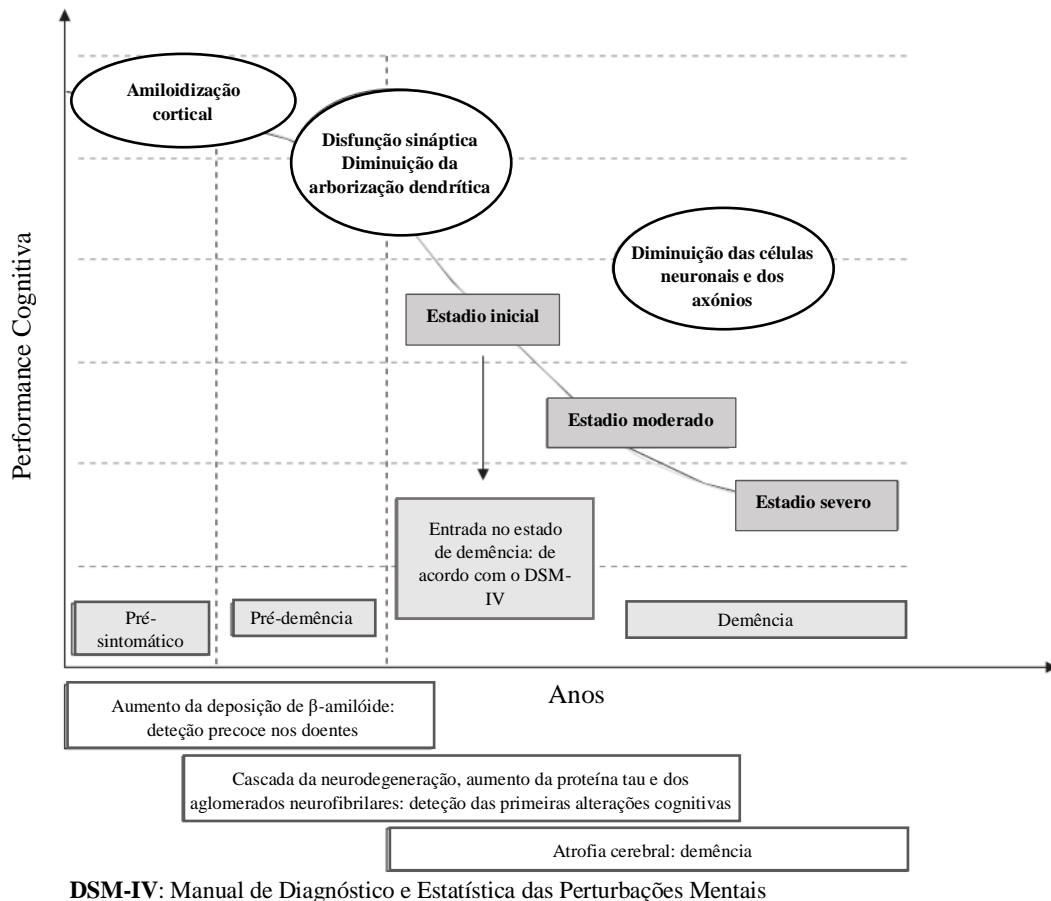
A DA é uma das doenças neurodegenerativas mais comuns, de natureza incurável e irreversível, que afeta a memória e a capacidade cognitiva, abrangendo cerca de 80% das pessoas que sofrem de demência mundialmente [37]. A maioria dos casos da DA afeta a população com mais de 65 anos, apesar de também poder surgir noutras faixa etárias, e caracteriza-se pela formação e acumulação de placas de P $\beta$ A e EN no cérebro, conduzindo à perda de neurónios e consequentemente, à perda progressiva da memória e das capacidades cognitivas [14, 37]. Pensa-se que isto acontece porque estes artefactos patológicos vão interferir não só com a comunicação entre neurónios ao nível das sinapses, mas também com o transporte de nutrientes necessários à sua homeostasia [14].

No início, quando ocorrem as primeiras modificações cerebrais devido à DA, o cérebro desenvolve mecanismos de forma a compensar estas alterações, sendo que estas alterações podem ocorrer décadas antes da doença ser propriamente diagnosticada [14].

Porém à medida que a doença evolui e os danos provocados no cérebro progridem, o cérebro deixa de conseguir compensar isto e começam a aparecer os primeiros sintomas da doença, que se caracterizam por [14]:

- Perda de memória ou confusão em relação ao tempo e espaço (primeiro sintoma visível da doença);
- Declínio das funções cognitivas, como a perceção, linguagem, pensamento, atenção e funções executivas;
- Mudanças comportamentais e psicológicas;
- Mudanças de personalidade e humor;
- Perda de interesse em atividades antigamente prazerosas;
- Comprometimento na realização das tarefas diárias [14].

Consoante os sintomas presentes no doente, a DA pode ser classificada em diferentes estadios clínicos: o estadio inicial, em que se começam a identificar os primeiros sintomas, o estadio moderado e o estadio severo, em que o doente já se encontra num estado de completa demência [36]. A Figura 4.1. é ilustrativa disso mesmo, mostrando que consoante o estadio da doença as alterações cerebrais que se verificam vão ser cada vez mais significativas, assim como o estado demencial do doente.



**Figura 4.1.:** Diferentes estadios da doença de Alzheimer e as principais alterações cerebrais subjacentes a cada estadio. Adaptado de [38].

#### 4.1. Tipos de Doença de Alzheimer

A DA pode ainda ser dividida em 3 tipos diferentes, especificamente em Alzheimer de início precoce, Alzheimer de início tardio e Alzheimer familiar [39].

Os doentes com Alzheimer de início precoce vão apresentar uma progressão mais rápida da doença, ou seja, a doença apresenta-se numa forma mais agressiva, e é diagnosticada em doentes com menos de 65 anos, representado apenas 5% dos casos de DA [39]. Por outro lado, os doentes com Alzheimer familiar vão desenvolver a doença em

idades entre os 40-60 anos, e é extremamente rara, representando menos de 1% dos casos de DA [40]; este tipo de Alzheimer é observado nos membros da população portadora de genes modificados como a PSEN1, PSEN2 e a APP, sendo que os portadores de algum destes genes apresentam uma herança autossômica dominante para a DA [39, 40]. Já a Alzheimer de início tardio, ou também conhecida por Alzheimer esporádica, compreende cerca de 95% dos casos da DA, e normalmente aparece em idades superiores a 65 anos, sendo um dos fatores predisponentes a presença do alelo ApoE  $\epsilon$ 4 [39, 41].

## 4.2. Achados patológicos na DA

Os principais achados neurológicos na DA envolvem a formação de placas de P $\beta$ A e o aparecimento de EN, sendo que estes são marcadores patognômicos para esta doença, e a sua presença é um requisito para o diagnóstico da DA [16, 42].

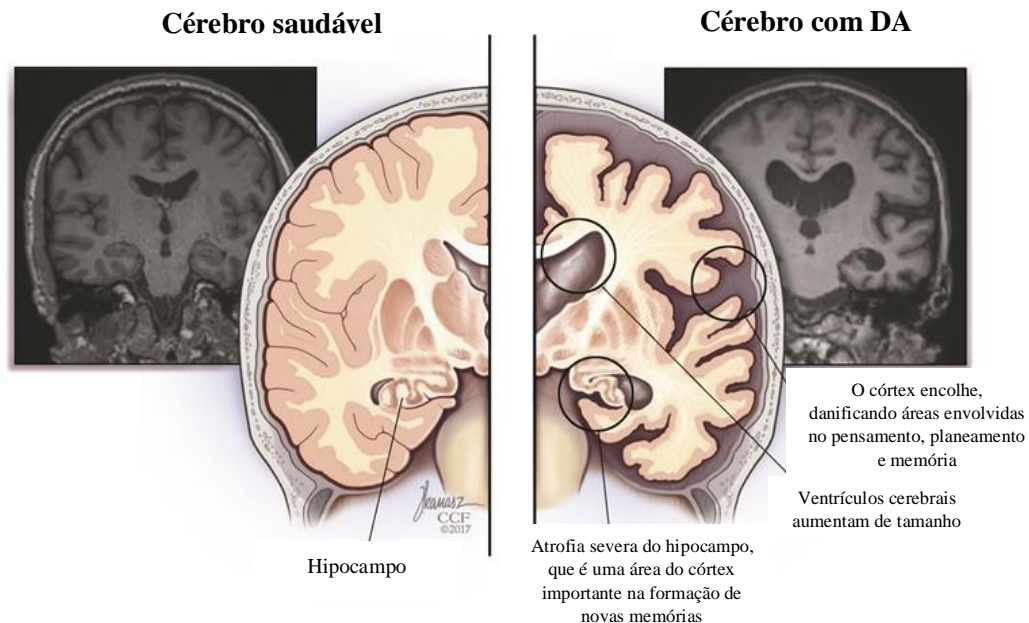
As placas de P $\beta$ A resultam da acumulação extracelular da P $\beta$ A, sendo que esta proteína solúvel é o produto do metabolismo da APP [9]. Na DA, o gene que codifica para a APP encontra-se mutado, levando a uma maior produção de P $\beta$ A e consequentemente uma maior acumulação desta [9, 42].

A deposição da P $\beta$ A ocorre por volta dos 30-40 anos nas regiões pouco mielinizadas do córtex cerebral, razão pela qual um dos primeiros sintomas da DA consista na perda de memória [43]; posteriormente passa a depositar-se no hipocampo, estende-se por grande parte do córtex, e na amígdala cerebelosa, podendo ser encontrados depósitos de P $\beta$ A igualmente noutras estruturas cerebrais [43]. Já no que diz respeito aos EN, estes são compostos de filamentos helicoidais de proteína tau fosforilada, sendo que a severidade e as características clínicas da DA se correlacionam diretamente com estes marcadores [9, 44]. Assim, quanto maior for o número de EN existentes no cérebro, mais severo vai ser o grau da DA, uma vez que o aparecimento de EN ocorre ao mesmo tempo que a perda neuronal [9, 44].

Importa referir que não obstante o surgimento de placas de P $\beta$ A e os EN ocorrer naturalmente com o envelhecimento, é a sua distribuição, densidade, e respetivas consequências a nível de vários processos, como por exemplo, as respostas pró-inflamatórias e o stress oxidativo, que leva à consequente perda neural em diversas áreas cerebrais característica da DA [16].

### 4.3. Alterações cerebrais

A nível macroscópico, a DA é vulgarmente caracterizada por uma atrofia generalizada do cérebro (Figura 4.2.), sendo esta considerada um marcador clínico válido para o diagnóstico da doença [45].



**Figura 4.2.:** Diferenças entre um cérebro afetado pela doença de Alzheimer e um cérebro normal, em que se pode observar uma perda de células cerebrais acentuada no cérebro afetado pela DA. Adaptado de [46].

As áreas cerebrais mais afetadas são o hipocampo, o córtex e a amígdala, sendo que alterações nestas estruturas cerebrais conduzem a dificuldades cognitivas, défices de memória e a transtornos emocionais, como por exemplo o aparecimento de um estado depressivo [45]. Vai ainda ser afetado o tálamo que é o principal responsável pela memória episódica, atenção, linguagem, e execução de tarefas, áreas essas que são afetadas nos doentes com DA [45].

Apesar de se saber que a P $\beta$ A e os EN desempenham um papel importante no desenvolvimento da DA, está ainda por esclarecer a patogénese responsável pela doença, e desta forma o mecanismo fisiopatológico exato da doença permanece desconhecido [44].

Existem inúmeras hipóteses relativas às bases fisiopatológicas da DA, sendo a hipótese da cascata amilóide a mais importante e a que atualmente reúne maior consenso por parte da comunidade científica, porém não explica todas as alterações características da DA que se observam nos doentes [45, 47].

#### 4.4. Hipóteses fisiopatológicas para a DA

A DA é uma doença que foi e ainda está a ser sujeita a uma extensa e complexa pesquisa, e dessa forma a etiologia e a patogénese da DA ainda não se encontra completamente esclarecida <sup>[47]</sup>. Durante os últimos anos, múltiplas hipóteses têm sido descritas para a fisiopatogénese da DA <sup>[47]</sup>.

##### 4.4.1. Hipótese da cascata amilóide

A hipótese da cascata amilóide postula que a neurodegeneração observada na DA é causada por uma acumulação em excesso da P $\beta$ A, levando à formação de placas senis em diversas áreas cerebrais <sup>[47]</sup>.

De acordo com esta hipótese, a acumulação de P $\beta$ A em placas é o processo desencadeante para uma série de processos que envolvem lesões neuríticas e a formação de aglomerados neurofibrilares de proteína tau, que por sua vez conduzem à disfunção neuronal, e conseqüente à morte celular <sup>[47]</sup>.

As placas senis são formadas devido à clivagem proteolítica anormal da APP pelas  $\beta$  e  $\gamma$  secretases, que vão originar a P $\beta$ A <sup>[7]</sup>. Um dos principais fragmentos resultantes deste processo proteolítico é a proteína  $\beta$  amilóide 1-42 (P $\beta$ A<sub>1-42</sub>) que é altamente neurotóxica e mais propensa à agregação, sendo maioritariamente encontrada em cérebros com a DA <sup>[7, 47]</sup>; já o outro fragmento formado é a proteína  $\beta$  amilóide 1-40 (P $\beta$ A<sub>1-40</sub>) que consiste numa proteína solúvel, menos neurotóxica e comumente encontrada nos cérebros saudáveis, contribuindo para a plasticidade cerebral <sup>[7]</sup>. Mais recentemente, descobriu-se a presença de outro fragmento, a proteína  $\beta$  amilóide 1-43 (P $\beta$ A<sub>1-43</sub>), que é também bastante amiloidogénica, neurotóxica e deposita-se muito mais cedo do que os outros fragmentos <sup>[7]</sup>. Nos doentes com DA, o rácio entre P $\beta$ A<sub>1-42</sub> e P $\beta$ A<sub>1-40</sub> é elevado, pelo que a presença da forma neurotóxica é significativamente maior do que a presença da forma menos neurotóxica <sup>[47]</sup>.

A formação das placas senis características da DA pode-se também dever a processos deficientes da *clearance* da P $\beta$ A, fazendo com que haja uma maior acumulação desta <sup>[48]</sup>. Existem inúmeros sistemas de *clearance* da P $\beta$ A neurotóxica, como sistemas de degradação extracelular e intracelular no cérebro, e transporte de efluxo da P $\beta$ A para a corrente sanguínea através de transportadores especializados localizados na barreira

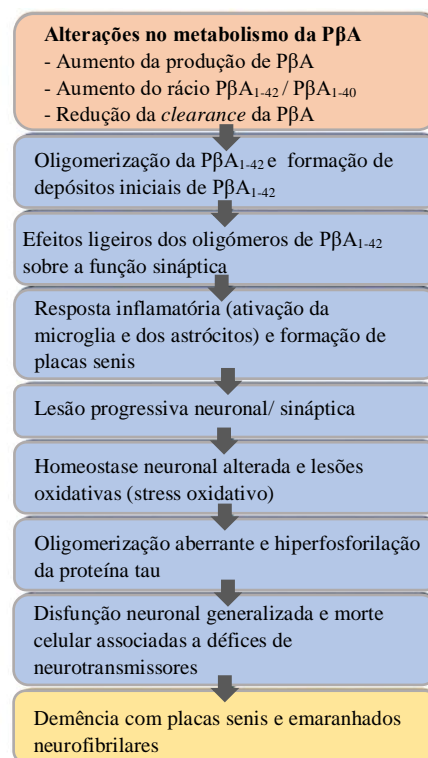
hematoencefálica (BHE) [48]. Porém, a *clearance* da P $\beta$ A é principalmente realizada por acção de duas proteases: a EDI e a neprilisina (NPL) [48].

A NPL é uma das proteases envolvidas na *clearance* cerebral da P $\beta$ A<sub>1-42</sub> e da P $\beta$ A<sub>1-40</sub>, impedindo assim a sua acumulação no cérebro [49]. A NPL é produzida unicamente nos neurónios e após a sua síntese é transportada para as terminações pré-sinápticas, e desta forma, pensa-se que a NPL induz a degradação da P $\beta$ A neste local [49]. Apesar disto, a NPL só cliva determinados substratos, sendo por esta razão menos eficaz que a EDI [48].

A EDI tem uma acção proteolítica para substratos com estrutura  $\beta$ , evitando assim a formação de aglomerados oligoméricos tóxicos, que estão associados a doenças como a DA [48]. Trata-se de uma protease maioritariamente responsável pela *clearance* da P $\beta$ A no hipocampo e pela degradação da P $\beta$ A presente no citoplasma dos neurónios e no líquido cefalorraquidiano (LCR) [48].

A atividade da EDI é fundamental para regular os níveis de P $\beta$ A no cérebro; [48] porém, a sua capacidade proteolítica vai diminuindo ao longo da idade e durante os estadios iniciais da DA, contribuindo para a diminuição da *clearance* da P $\beta$ A, e conseqüentemente, para a respetiva agregação em placas senis [48]. Para além disto, podem existir polimorfismos na EDI que promovam a diminuição a sua atividade, reduzindo a degradação da P $\beta$ A [48]. Contrariamente, existem também mutações com o efeito inverso, responsáveis por conferir uma protecção para o desenvolvimento da DA [48]. A atividade da EDI é controlada pelos níveis endógenos de insulina/glucose presente no cérebro, sendo que níveis elevados de glucose levam a uma redução da atividade, ao passo que níveis elevados de insulina vão fazer com que esta compita com a P $\beta$ A, inibindo a sua ligação e, conseqüentemente, a sua degradação, já que ambos são substratos desta enzima [23].

De acordo com a esta hipótese, o excesso P $\beta$ A presente no cérebro vai levar a que não só se formem as placas senis compostas por aglomerados



**P $\beta$ A**: Proteína  $\beta$  amilóide; **P $\beta$ A<sub>1-42</sub>**: Proteína  $\beta$  amilóide 1-42 **P $\beta$ A<sub>1-40</sub>**: Proteína  $\beta$  amilóide 1-40

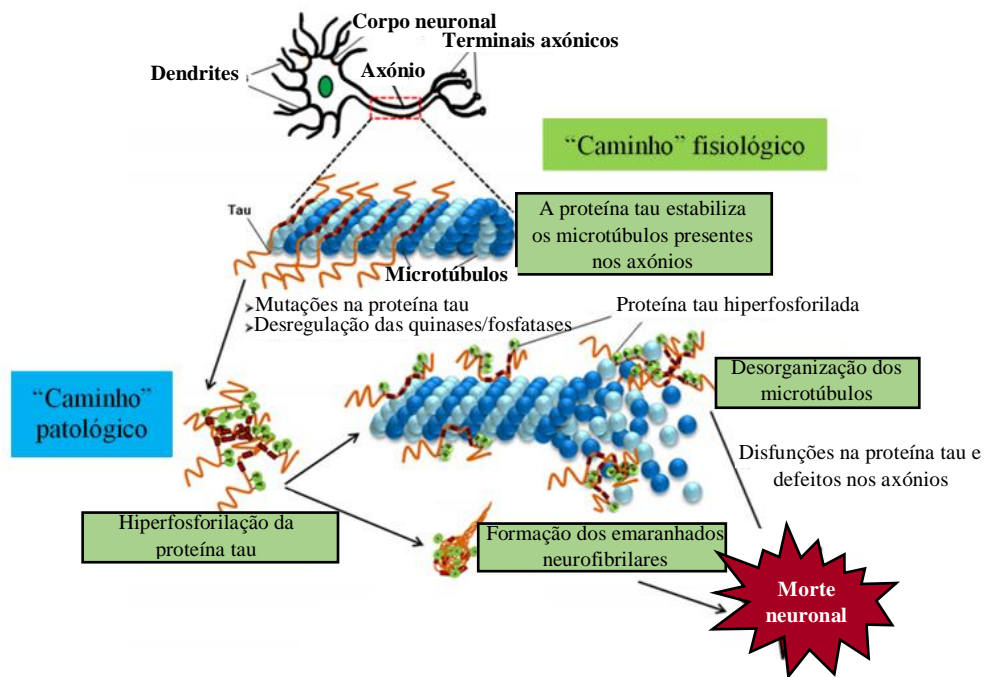
**Figura 4.3.:** Hipótese da cascata amilóide, em que a sobreprodução da proteína  $\beta$  amilóide conduz à formação de placas senis e conseqüentemente a inúmeras alterações a nível cerebral.

Adaptado de [47].

de fibrilhas de P $\beta$ A, como também conduz à inflamação, ao stress oxidativo e à hiperfosforilação da proteína tau e consequentemente à demência. (Figura 4.3.)<sup>[8]</sup>.

#### 4.4.2. Hipótese da proteína tau

A DA caracteriza-se neuropatologicamente pela presença de EN, que são compostos por fibrilhas de PTF, e que se acumulam nas sinapses e nos neurónios; pensa-se que a agregação da PTF é induzida pela P $\beta$ A, pelo que os EN vão aparecer no cérebro mais tarde que as placas senis<sup>[8, 47]</sup>. Estes EN vão bloquear a transmissão nervosa, já que estes se acumulam nas áreas próximas dos axónios, conduzindo a um défice de neurotransmissores e à gradual morte celular uma vez que estas alterações patológicas proliferam para os neurónios adjacentes<sup>[50, 51]</sup>. Após a morte neuronal, os EN são libertados extracelularmente e vão ser internalizados pelos astrócitos e pelas células da microglia<sup>[7]</sup>.



**Figura 4.4.:** Hipótese da proteína tau- O desequilíbrio entre as fosfatases e as quinases promove a hiperfosforilação da proteína tau, levando à destabilização dos microtúbulos neuronais, e consequentemente à formação dos EN. Adaptado de [52].

A proteína tau está presente nos neurónios e pertence a uma família de proteínas associadas a microtúbulos, desempenhando um papel importante na sua montagem e estabilização<sup>[51]</sup>. Em condições patológicas ainda por esclarecer observa-se uma maior atividade de fosforilação das quinases, nomeadamente da quinase 3 beta da sintetase do glicogénio (GSK3 $\beta$ ), e uma menor regulação da desfosforilação das fosfatases,

principalmente da proteína fosfatase 2 (PP2A), sendo que este desequilíbrio vai resultar num aumento dos níveis de PTF [7]. Ao existir uma quantidade relativamente elevada de PTF nos neurónios, assiste-se a uma diminuição da sua afinidade pelos microtúbulos resultando na desintegração destes, o que por sua vez leva à destabilização do citoesqueleto neuronal, e como consequência à formação dos EN que levam à morte neuronal, tal como demonstrado na Figura 4.4. [7].

#### 4.4.3. Hipótese colinérgica

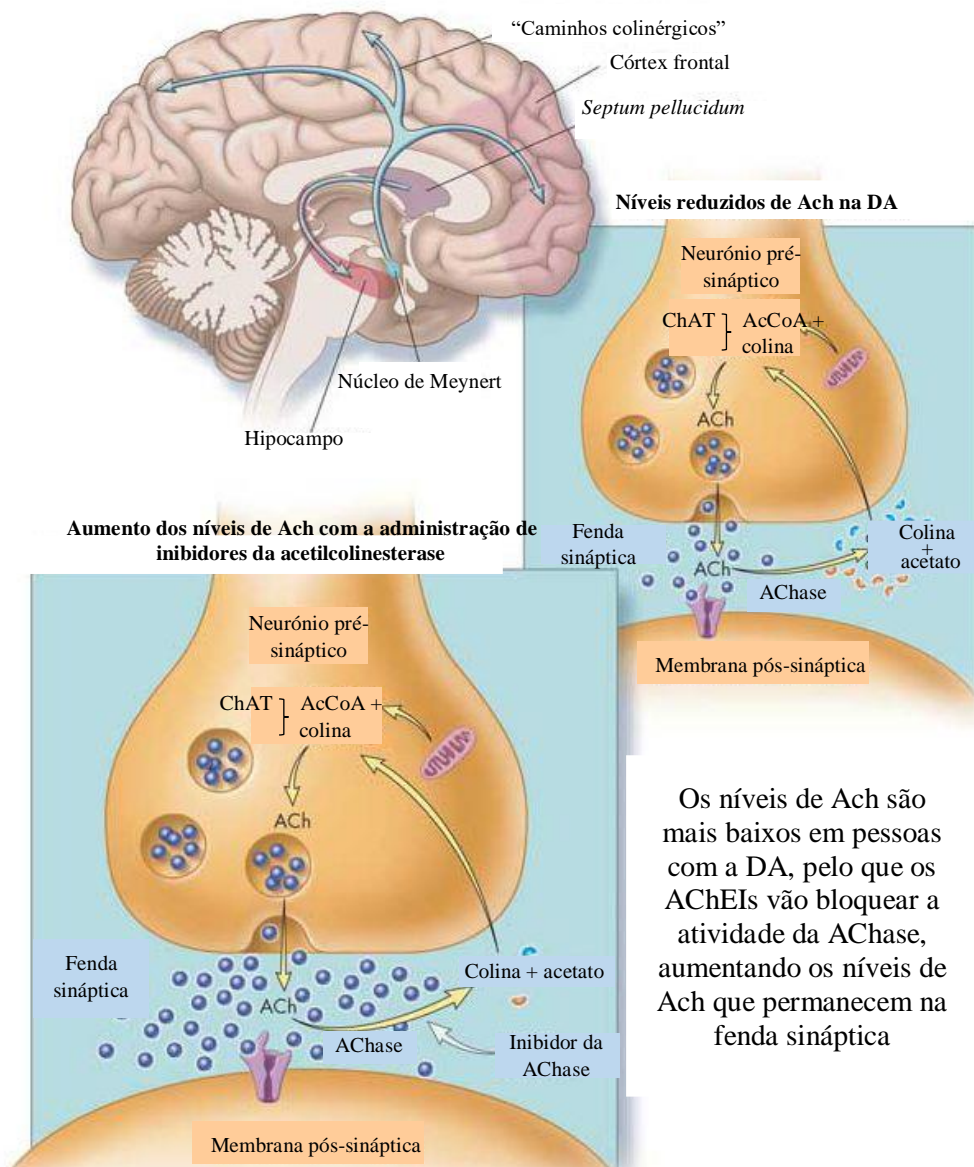
A acetilcolina (Ach) é um neurotransmissor que está envolvido em inúmeros processos fisiológicos, nomeadamente na atenção, aprendizagem, memória, sono, informação sensorial e na resposta ao stress [53].

A Ach atua sobre dois tipos de recetores: os muscarínicos e os nicotínicos ionotrópicos [54]. Os recetores muscarínicos de acetilcolina (mAChRs) estão acoplados à proteína G e podem ser dos subtipos M1, M2, M3, M4 e M5, e atuam de forma inibitória, ou seja, inibem a libertação da Ach, reduzem a libertação de glutamato (M2/M4) e estimulam a libertação de dopamina (M1/M5) [54]; já os recetores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) são canais de catiões, localizados principalmente nos terminais pré-sinápticos cuja estimulação aumenta a libertação de glutamato, GABA, dopamina e Ach, estando envolvidos na maioria dos efeitos da Ach a nível cognitivo [54, 55].

Posto isto, observou-se que nos cérebros de doentes com DA existe uma perda da atividade colinérgica nas áreas onde existe uma maior produção de Ach no cérebro, principalmente no núcleo basal de Meynert, no córtex e no hipocampo, tendo sido detetado nestas áreas cerebrais quantidades reduzidas da enzima responsável pela produção da Ach, a colina acetiltransferase (ChAT), e também uma redução dos recetores nicotínicos do subtipo  $\alpha$ -4 [56, 57].

Com esta descoberta e conhecendo o papel determinante da Ach na aprendizagem e memória, desenvolveu-se a hipótese colinérgica na qual se propõe a associação da DA com uma degeneração dos neurónios colinérgicos no prosencéfalo e consequentemente leva a perda de transmissão colinérgica no hipocampo e no córtex, originando uma menor produção de Ach [55, 57]. Desta forma, um aumento da atividade colinérgica irá conduzir a uma melhoria das capacidades cognitivas e da memória [55, 57].

Para aumentar a transmissão colinérgica em doentes com DA é necessário a administração de fármacos que aumentem os níveis de Ach, ou seja, fármacos que inibam a degradação da Ach pela enzima acetilcolinesterase (AChase), ou que estimulem a produção de Ach pela enzima ChAT [55]. Assim, para aumentar a concentração da Ach na fenda sináptica ou para diminuir a sua degradação foram desenvolvidos os fármacos AChEs com o intuito de melhorar as funções cognitivas dos doentes portadores da doença, como demonstrado na Figura 4.5. [55].



**Ach:** acetilcolina; **AChase:** acetilcolinesterase; **AcCoA:** acetil CoA; **ChAT:** colina acetil-transferase **DA:** Doença de Alzheimer;

**Figura 4.5.:** Efeitos sobre os níveis de Ach num cérebro com DA e noutro sujeito ao tratamento com AChEs, em que no cérebro com DA se verifica uma quantidade reduzida de Ach, já quando se inicia o tratamento com AChEs a Ach vai aumentar na fenda sináptica. Adaptado de [58].

#### **4.4.4. Hipótese glutamatérgica**

O glutamato é um dos neurotransmissores excitatórios mais abundantes no Sistema Nervoso Central (SNC) <sup>[59]</sup>. O seu efeito é mediado pelos recetores do glutamato ionotrópicos, exercendo um papel fundamental na plasticidade e função sináptica, que é o mecanismo por de trás da aprendizagem e memória <sup>[59]</sup>.

Na DA vão existir alterações na normal sinalização mediada pelos recetores do glutamato, sendo que os principais recetores afetados são os N-metil-D-aspartato (NMDAR) <sup>[59]</sup>. Para além de serem determinantes na transmissão e plasticidade sináptica, os NMDAR têm também um papel importante na sobrevivência dos neurónios, uma vez que alguns estudos demonstraram que o bloqueio da função dos NMDARs conduz à apoptose neuronal e à degeneração dos neurónios <sup>[59]</sup>.

Assim, uma sinalização insuficiente dos NMDARs compromete a sobrevivência das células neuronais, porém o excesso de sinalização glutamatérgica poderá resultar em excitotoxicidade devido à entrada de níveis elevados de iões cálcio ( $Ca^{2+}$ ) <sup>[59]</sup>. O excesso destes iões vai ativar enzimas que vão causar danos ou mesmo morte celular, ou causar traumas neurológicos, como os observados num acidente vascular cerebral (AVC) <sup>[59]</sup>.

Com base no exposto, afigura-se crucial que a sinalização dos NMDARs se mantenha num nível apropriado que seja suficiente para promover a sobrevivência neuronal, mas que não seja prejudicial ao ponto de causar neurodegeneração, como se observa na DA <sup>[59]</sup>. Os principais fatores que afetam a sinalização dos NMDARs na DA são a disponibilidade do glutamato (na DA existe um excesso de glutamato) e a modulação dos canais dos NMDARs <sup>[59]</sup>.

Para evitar a neurodegeneração causada pelo excesso de glutamato na fenda sináptica, foram desenvolvidos fármacos antagonistas dos NMDARs (AnNMDARs), que permitem manter um nível apropriado de glutamato, retardando a morte neuronal <sup>[55, 59]</sup>.

#### **4.4.5. Stress oxidativo e hipótese mitocondrial**

As placas de P $\beta$ A interferem com a cadeia de transporte de eletrões na mitocôndria, levando à produção de radicais livres que por sua vez são responsáveis pelo aumento do stress oxidativo <sup>[7]</sup>. Alguns dos radicais formados, nomeadamente os superóxidos, são altamente reativos e ao reagirem com o óxido nítrico promovem a formação de outras espécies oxidativas altamente reativas <sup>[7]</sup>. Estes radicais livres vão-se

acumular, induzindo lesões e morte celular tipicamente inerentes à DA [7]. A P $\beta$ A pode ainda provocar na mitocôndria alteração das respetivas membranas e redução da capacidade respiratória essencial para o cérebro, havendo uma menor produção de ATP pela mitocôndria, e um aumento da vulnerabilidade a outras espécies altamente reativas, culminando na apoptose das células mitocondriais [60, 61].

Por outro lado, estes radicais livres podem levar à oxidação e quebra das cadeias do ácido desoxirribonucleico (ADN), ao *cross linking* das proteínas constituintes do ADN e até a modificações das suas bases [60].

Para além disto, o stress oxidativo pode causar oxidação e glicosilação de certas proteínas e lípidos, levando à formação de produtos que intensificam o stress oxidativo e a neuro-inflamação [60].

As principais zonas cerebrais afetadas pelo stress oxidativo são o córtex, o hipocampo e a amígdala, que são zonas responsáveis pela memória, linguagem e criação de novas memórias, justificando-se o carácter progressivo na evolução da doença. [60]. De facto, o stress oxidativo é um processo naturalmente inerente à idade, porém em doentes com DA, constitui um fenómeno frequentemente exacerbado [60]. Tendo em conta que a mitocôndria desempenha um papel muito importante no controlo da homeostasia redox e no metabolismo energético, alterações na sua função vão fazer com que esta seja menos versátil na resposta às constantes necessidades celulares com o consequente aumento do stress oxidativo e degeneração neuronal [60, 61].

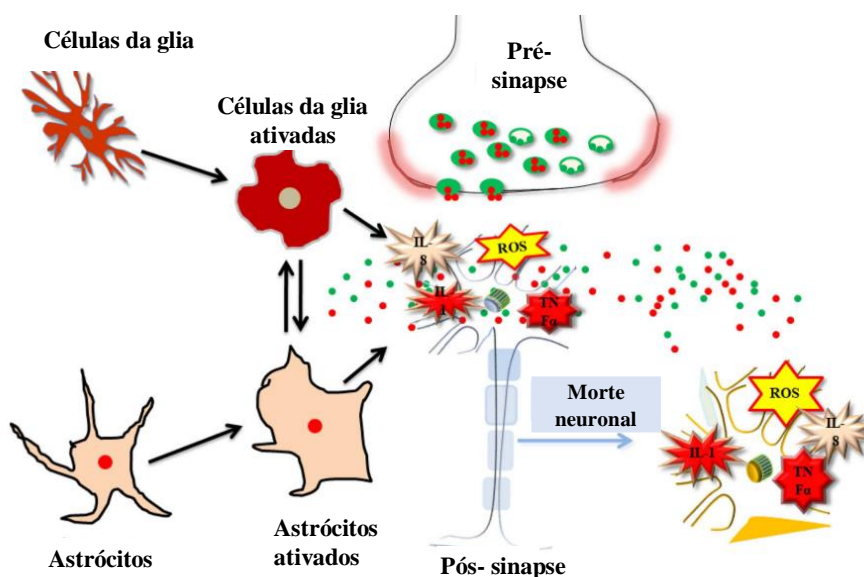
De forma a evitar o stress oxidativo, a solução pode passar pela administração de fármacos com um efeito antioxidante, ou até por um reforço alimentar com alimentos antioxidantes [61].

#### **4.4.6. Hipótese inflamatória**

As células da glia exercem um papel fundamental na resposta imune e na homeostase do cérebro, podendo desempenhar funções neuroprotetivas e de fagocitose [7]. Porém, durante o desenvolvimento e progressão da DA, o aparecimento das placas senis, juntamente com os EN, promove a superativação das células da glia e dos astrócitos, desencadeando mecanismos disfuncionais [7, 62]. A ativação das células da glia aumenta a expressão de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias como as interleucinas e o fator de necrose tumoral (TNF $\alpha$ ), produzindo igualmente radicais livres [7, 62]; já os

astrócitos vão-se ligar à P $\beta$ A, levando à secreção de inúmeros mediadores pró-inflamatórios como as interleucinas, as prostaglandinas, os leucotrienos e os tromboxanos, contribuindo para o aumento da resposta neuro-inflamatória (Figura 4.6.) [7, 62].

O conjunto destes mediadores inflamatórios vai ser responsável por disfunções sinápticas e morte neuronal [7]. Uma vez libertadas, estas substâncias induzem a produção de APP, e a elevação dos níveis desta proteína faz com que haja um consequente aumento da produção de P $\beta$ A, levando à sua acumulação e consequente formação de placas senis; paralelamente, os radicais livres irão também causar a morte neuronal [7, 62].



IL-8/IL-1: Interleucina 8 e interleucina 1; ROS: espécies reativas de oxigênio; TNF $\alpha$ : fator de necrose tumoral

**Figura 4.6.:** Processo de neuro-inflamação na DA. A ativação das células da glia e dos astrócitos promove a produção de mediadores inflamatórios e de radicais livres que vão atuar sobre os neurónios, conduzindo à sua morte. Adaptado de [7].

Em suma, a neuro-inflamação resulta da própria patologia e contribui para o aumento da severidade da doença ao favorecer a produção de P $\beta$ A [62]. Assim, a inibição da neuro-inflamação pode constituir uma boa alternativa para o tratamento da DA, sendo também importante desenvolver métodos que permitam a deteção de marcadores inflamatórios para que se possa fazer o diagnóstico ou a monitorização da doença [62].

## 5. Terapêuticas usadas para a doença de Alzheimer

Atualmente ainda não existem tratamentos farmacológicos efetivos para a DA, sendo que os tratamentos atualmente disponíveis apenas permitem retardar a progressão da doença e oferecem algum alívio sintomático, fazendo com que exista uma diminuição do declínio da qualidade de vida dos doentes e uma redução das manifestações psiquiátricas [63].

Existem apenas 4 medicamentos atualmente aprovados e comercializados para o tratamento da DA [63]. Entre eles, 3 atuam sobre o SNC a nível colinérgico, incluindo o donepezilo, a galantamina e a rivastigmina, designando-se por medicamentos AChEs [63]. Trata-se de fármacos frequentemente utilizados nas fases iniciais da doença, demonstrando a obtenção de uma melhoria da função cognitiva e da capacidade de realizar as atividades diárias e comportamento [63].

A memantina é o mais recente medicamento aprovado para o tratamento da DA, e tem como alvo os NMDARs, exercendo um efeito antagonista sobre estes recetores, ou seja, funciona como modulador glutaminérgico [63].

### 5.1. Inibidores da acetilcolinesterase

O défice de neurotransmissores colinérgicos na DA levou ao desenvolvimento de fármacos AChEs, sendo que estes medicamentos constituem a 1ª linha de tratamento para os sintomas da DA [38]. Estes medicamentos são geralmente implementados em terapêutica única em casos de DA ligeira a moderada, mas no estadió moderado a grave, os AChEs passam a ser usados em associação com a memantina, um AnNMDAR [16].

O mecanismo de ação destes medicamentos baseia-se no aumento dos níveis de Ach na fenda sináptica através da inibição da enzima responsável pela sua degradação, a AChase [38]. Porém, existem evidências que estes fármacos podem atuar sobre outros alvos farmacológicos: a rivastigmina inibe também a butirilcolinesterase (BuChE) que é igualmente uma enzima responsável pela degradação da acetilcolina, porém em menor extensão do que a AChase [38]; o donepezilo e a galantamina exercem um efeito modulador dos recetores nicotínicos, podendo assim influenciar outros neurotransmissores, como o glutamato, a serotonina e a noradrenalina, exibindo um espectro de ação mais amplo sobre vários sintomas comuns à DA [38, 63, 64].

Porém, antes do aparecimento destes 3 AChEIs, tinha surgido a tacrina, um fármaco inibidor da AChase de 1º geração, tendo sido aprovado em 1993 para o tratamento da DA [65]. Apesar de potente e clinicamente efetivo, este medicamento teve de ser posteriormente retirado do mercado devido aos seus efeitos adversos sobre o fígado, principalmente pela elevação dos valores da alanina aminotransferase (ALT), e a nível gastrointestinal, causando vômitos, dores abdominais e diarreia [65, 66].

O donepezilo, a rivastigmina e a galantamina foram aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA), em 1996, 2000 e 2001, respetivamente, constituindo os inibidores da AChase de 2º geração atualmente recomendados em doentes com DA ligeira a moderada [38, 63]. Estas moléculas apenas atingem o pico de eficácia máxima ao fim de 3 meses da terapêutica, e apresentam um perfil terapêutico mais favorável comparativamente com a tacrina [16].

O donepezilo é administrado uma vez por dia, exibindo efeitos dose-dependentes [66]. Regra geral, é possível alcançar uma melhoria ou não deterioração da função cognitiva, apesar de o carácter heterogéneo da DA poder contribuir para diferentes respostas à terapêutica [66]. A dose diária de donepezilo varia entre os 5-10 mg, apresentando uma elevada tolerabilidade sem registo de problemas de hepatotoxicidade, ao contrário da tacrina [66]. Embora o donepezilo apresente elevada seletividade para o seu alvo terapêutico, evidencia-se incapaz de atravessar completamente a BHE, fazendo com que se verifique de igual forma a inibição da AChase periféricamente, induzindo assim uma série de efeitos adversos tanto a nível gastrointestinal, incluindo vômitos, diarreia, náuseas e contrações involuntárias dos músculos, como a nível cardíaco, provocando bradicardia [67].

Já a rivastigmina é administrada duas vezes ao dia, sendo que a dose necessária para exercer efeito terapêutico pode variar entre 6 a 12 mg [64, 68]. Deve-se administrar preferencialmente após as refeições de forma a minimizar os efeitos secundários a nível gástrico e a aumentar a adesão à terapêutica, já que a rivastigmina é o AChEI que apresenta um maior risco de desenvolver reações adversas [64]. Em 2013, de forma a evitar os efeitos adversos gastrointestinais das formulações orais, foram aprovados pela FDA sistemas transdérmicos de rivastigmina com dosagens a variar entre os 4,6 e os 13,3mg/dia, tendo sido demonstrada uma efetividade similar comparativamente com as formulações orais equivalentes e uma maior adesão à terapêutica, apesar de terem como

principal efeito adverso o aparecimento de prurido e manchas na pele no local de aplicação [69].

A galantamina, por via oral, é administrada duas vezes ao dia, em doses que podem variar entre os 4 e os 12mg [69]. Após administração, a galantamina fica 100% biodisponível, distribuindo-se extensamente pelos tecidos ao longo do corpo [64]. Tal como nas outras moléculas com atividade inibidora da AChase, os principais efeitos adversos da galantamina apresentam um carácter dose-dependente e afetam maioritariamente o trato gastrointestinal, podendo também causar perda de peso e bradicardia [64, 69]. Relativamente aos benefícios terapêuticos da galantamina, observou-se que os doentes que fazem esta medicação apresentam melhorias cognitivas e funcionais [70, 71].

**Tabela 5.1.:** Fármacos AChEIs aprovados em Portugal para o tratamento da DA. [16, 64, 69, 72].

Fármaco	Mecanismo de ação	Posologia	Indicação terapêutica	Efeitos adversos
<b>Tacrina</b> *	Inibição da AChase e BuChE	10-40 mg de 6/6h	Regime de monoterapia na DA ligeira a moderada	Alteração da função renal (seguir função renal), náuseas, vômitos e diarreia
<b>Donepezilo</b> †	Inibição da AChase, maioritariamente no SNC	5-20 mg/dia	Regime de monoterapia na DA ligeira a moderada; em combinação na DA moderada a severa	Náuseas, vômitos e diarreia
<b>Rivastigmina</b> ±	Inibição da AChase e BuChE	1,5-6 mg 2x dia (oral) 4,6-13,3 mg/24h (Sistema transdérmico)	Regime de monoterapia na DA ligeira a moderada; em combinação na DA moderada a severa	Náuseas, vômitos, diarreia, confusão e insónia
<b>Galantamina</b> ‡	Inibição da AChase e modulação dos recetores nicotínicos	4-12 mg 2x dia (libertação imediata); 8-24mg/dia (libertação prolongada)	Regime de monoterapia na DA ligeira a moderada; em combinação na DA moderada a severa	Náuseas, vômitos, diarreia e anorexia

**AChase:** Acetilcolinesterase; **BuChE:** Butilcolinesterase; **DA:** Doença de Alzheimer; **SNC:** Sistema Nervoso Central.  
 †: Aricept®; ±: Exelon®; ‡: Reminyl®; \*Retirado do mercado

Não existem evidências, dentro desta classe farmacoterapêutica, da superioridade de qualquer um dos fármacos relativamente a outro, porém diferenças em relação à frequência de tomas, à variação de doses e à via de administração (sistema transdérmico *versus* via oral) podem influenciar os *outcomes* observados no doente [68, 71].

Todos os fármacos AChEs aprovados em Portugal para o tratamento da DA encontram-se resumidos na sistematizados na Tabela 5.1.

## 5.2. Antagonistas dos recetores N-metil-D-aspartato

Mais recentemente foi aprovado para o tratamento da DA, o primeiro fármaco que tem como alvo terapêutico os NMDARs, funcionando como antagonista destes recetores, ou seja, é um fármaco antiglutamatérgico [9]. Este medicamento tem como principal objetivo reduzir os efeitos neurotóxicos do excesso de glutamato no cérebro inerente à DA e explicado pela hipótese glutamatérgica, sem interferir com sua ação fisiológica, promovendo a diminuição dos défices na linguagem e o aumento da plasticidade sináptica [38, 68].

A memantina é apenas recomendada para o tratamento de casos de DA moderada a severa, porém os dados de eficácia, nestes casos, revelam que este medicamento traz poucos benefícios aos sintomas neurológicos dos doentes, mas altera alguns sintomas comportamentais [38, 55]. Vários estudos demonstraram que a memantina apresenta uma maior eficácia quando usada concomitantemente com um AChE como o donepezilo ou a galantamina, uma vez que em associação manifestam ter um papel importante na modulação de processos de aprendizagem, já que o glutamato e a Ach intervêm nestes processos [55]. Uma vez que muitos doentes se encontram sob esta terapêutica de associação, foi aprovado pela FDA, mas não pela *European Medicines Agency* (EMA), um medicamento que contém a combinação de memantina e donepezilo, o Namzaric<sup>®</sup>, em que apenas é necessário fazer uma toma por dia [71].

Apesar de raras, a maioria das reações adversas associadas à memantina são a fadiga, dores abdominais, obstipação, tonturas, cefaleias e hipertensão, estando por isso desaconselhado em doentes com este problema [38, 68].

A posologia recomendada para o início do tratamento é de 5mg por dia, sendo que esta dose pode ser aumentada gradualmente até se atingir a dose máxima de 10mg duas vezes por dia, ou então de 20mg em toma única diária [68].

A memantina vai ter um efeito preventivo ou vai mesmo suprimir a progressão das dificuldades cognitivas, como a memória e a aprendizagem, e vai melhorar algumas alterações comportamentais verificadas nos doentes com DA, como a depressão e a ansiedade [73].

No final do capítulo está uma tabela resumo (Tabela 5.2.) com as características dos fármacos AnNMDAR.

**Tabela 5.2.:** Fármacos AnNMDAR aprovados em Portugal para o tratamento da DA. [9, 69].

Fármaco	Mecanismo de ação	Posologia	Indicação terapêutica	Efeitos adversos
<b>Memantina</b> §	Antagonismo dos recetores NMDA	5-20 mg/dia	DA moderada a severa	Náuseas, diarreia, tonturas e agitação
<b>DA:</b> Doença de Alzheimer; <b>NMDA:</b> N-metil-D-aspartato; §: Ebixa®/ Axura®;				

### 5.3. Tratamento dos sintomas não cognitivos

Geralmente a DA está associada a sintomas neuropsiquiátricos, que afetam cerca de mais de 80% dos doentes com demência [68]. Estes distúrbios comportamentais incluem delírios, ansiedade, apatia, irritabilidade, agitação, agressividade e depressão, podendo manifestar-se em qualquer estadió da doença, apesar da depressão e agressividade serem mais comuns na DA severa [68].

Assim, para se fazer um controlo destes sintomas neuropsiquiátricos é necessário a administração de fármacos direcionados para estes problemas [68].

#### 5.3.1. Antidepressivos

Para o tratamento da depressão em doentes com DA são maioritariamente usados a sertralina e o citalopram, ambos inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS), mas também a paroxetina, o escitalopram e a fluoxetina [68]. Estes fármacos vão ter como principal objetivo reduzir a agitação e agressividade e melhorar o humor dos doentes, uma vez que vão fazer com que exista um aumento da concentração da serotonina na fenda sináptica [68, 74].

No que respeita aos efeitos adversos, causam frequentemente diarreia, náuseas, tonturas, insónia, anorexia, tremores, cefaleias, xerostomia e disfunção sexual [74]. Em casos mais extremos podem conduzir ao suicídio [74].

Como alternativa aos ISRS podem também ser usados os antidepressivos tricíclicos, como a nortriptilina, sendo que estes são usados raramente uma vez que têm como principal efeito adverso arritmias cardíacas [74].

O recurso a antidepressivos atípicos como a mirtazapina e a venlafaxina assume-se de igual modo como uma opção terapêutica válida apesar da venlafaxina estar associada à elevação da pressão arterial [74].

### **5.3.2. Antipsicóticos**

Para o tratamento da psicose e da agitação verificada em doentes com DA são usados antipsicóticos de 2ª geração como a risperidona, a olanzapina, a quetiapina e o aripiprazol [1, 68]. Estes medicamentos causam um grau menor de sedação e apresentam poucos efeitos adversos a nível cardiovascular, nomeadamente hipotensão ortostática, hipotensão e taquicardia, e também não causam aumento de peso nem efeitos anticolinérgicos, como a xerostomia (boca seca), obstipação e retenção urinária [74]; porém, provocam efeitos adversos cardíacos, aumentando o risco de eventos cardiovasculares como ataques cardíacos [74].

Pode ainda ser usado o haloperidol que é um potente neuroléptico e um antipsicótico típico, que é usado para o tratamento da psicose, agitação e agressividade em doentes não responsivos aos antipsicóticos atípicos [74]. Porém, o haloperidol causa mais efeitos anticolinérgicos do que os antipsicóticos de 2ª geração [74].

### **5.3.3. Anticonvulsivantes**

Os anticonvulsivantes, como a carbamazepina e o ácido valpróico, são usados para reduzir a agressividade e a agitação e como modificadores do humor, sendo que estes medicamentos, entre outros mecanismos, promovem a modulação dos canais de sódio dependentes de voltagem e a potenciação da inibição neuronal mediada pelo GABA [68, 74].

A carbamazepina tem como principais efeitos adversos sonolência, problemas gastrointestinais, ataxia (incoordenação de movimentos), *rash* cutâneo e elevação das

enzimas hepáticas, estando de igual forma associada a fenómenos de agranulocitose e anemia aplástica (insuficiente produção de todos os elementos sanguíneos) [68].

Já o ácido valpróico é usado como alternativa à carbamazepina porque possui menos interações medicamentosas do que a última, mas tem como principais efeitos secundários, náuseas, vômitos, sedação, diarreia, ataxia e tremores [68]. Este medicamento exige um controlo rigoroso das enzimas hepáticas e dos seus níveis plasmáticos [68].

A gabapentina, a lamotrigina e o topiramato são outros anticonvulsivantes mais recentes cuja eficácia e tolerância ainda não foi completamente esclarecida em doentes com DA [68].

#### **5.3.4. Benzodiazepinas**

As benzodiazepinas como o lorazepam e o oxazepam são frequentemente usadas para o controlo da agitação [68]. Estes fármacos, geralmente, não acarretam grandes problemas em doses baixas, porém com o aumento das doses começam-se a verificar alguns efeitos adversos, como a sedação excessiva, ataxia, confusão, e podem inclusivamente agravar a agitação [68].

O zolpidem, que é um “benzodiazepina-like”, é também usado nos doentes com DA uma vez que foi demonstrado o seu efeito na redução do estado de alerta noturno [68].

A buspirona, que é um ansiolítico não-benzodiazepínico e um antidepressivo atípico, demonstrou eficácia na redução da ansiedade, agressividade e agitação em doentes com demência [68].

## 6. Estratégias terapêuticas futuras

Até agora não existem evidências que nenhum dos fármacos atualmente no mercado tenha a capacidade de modificar os processos que levam ao desenvolvimento da DA [63]. Consequentemente, é providencial a investigação e o desenvolvimento de novos fármacos com capacidade de modificar a doença, ou seja, impedir que esta progrida, representando um dos maiores desafios da medicina moderna [8].

Os últimos medicamentos em estudo têm-se focado em terapias anti-amilóide, como os inibidores da  $\beta$  secretase e os anticorpos monoclonais anti-amilóide [1]. Estão também em desenvolvimento terapias que têm como alvo terapêutico a proteína tau e o uso de insulina intranasal [1].

### 6.1. Terapêuticas que têm como alvo a P $\beta$ A

Estudos recentes e ainda em progresso na área das terapias que têm como alvo farmacológico a P $\beta$ A têm vindo a providenciar informações importantes, exibindo potencial terapêutico para constituírem uma via possível de cura para a DA [47].

Como a hipótese amilóide é a que reúne maior unanimidade entre os investigadores, e de acordo com esta teoria, a acumulação da P $\beta$ A assume um papel fundamental no desenvolvimento da doença, desta forma, terapias que promovam a diminuição da produção da P $\beta$ A ou o aumento da sua *clearance* poderão constituir um passo significativo para a cura da DA [47].

#### 6.1.1. Moduladores da $\beta$ secretase

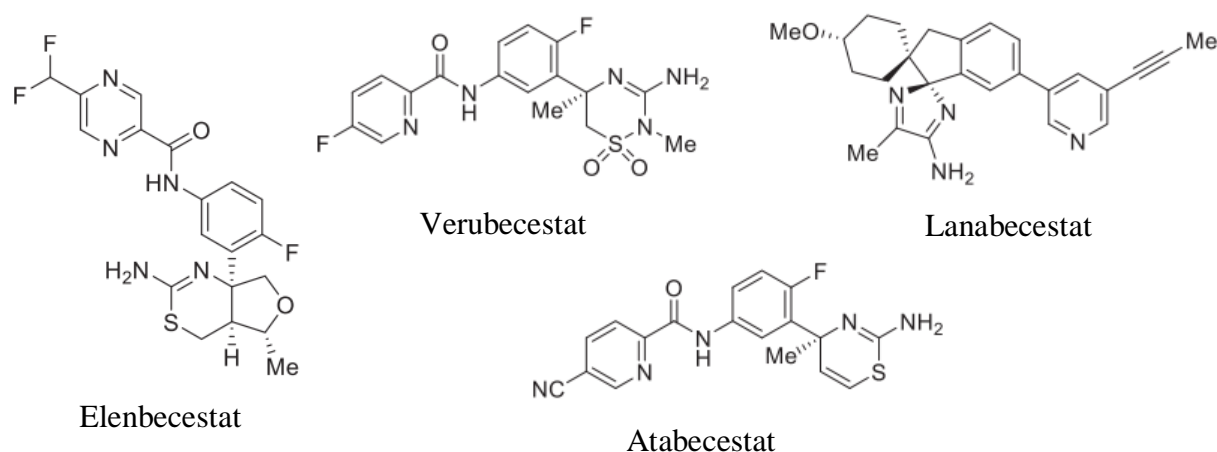
A  $\beta$  secretase (BACE) é um complexo enzimático responsável pela atividade catalítica da APP, levando à formação de fragmentos que vão ser os futuros constituintes da P $\beta$ A [51].

O design para medicamentos inibidores da BACE tem de obedecer a vários parâmetros, como o tamanho molecular e a seletividade, para que seja possível a transposição da BHE e a ligação específica à BACE-1 (existe também a BACE-2, que é uma isoforma da BACE-1, localizando-se predominantemente nos rins, pâncreas, estômago e cólon) [51].

Já foram desenhados inúmeros inibidores da BACE-1 com potencial terapêutico através de ferramentas computacionais, sendo que a principal preocupação é a

biodisponibilidade oral e a seletividade destas moléculas [75]. Os inibidores desenhados para uma conformação fechada da enzima possuem uma estabilidade metabólica muito reduzida e não conseguem atravessar a BHE extensamente, porém os inibidores para a forma aberta da enzima têm um peso molecular mais reduzido, são metabolicamente estáveis e conseguem transpor a BHE, tendo demonstrado eficácia como inibidores da BACE-1 [75].

Assim, o foco tem sido encontrar inibidores da BACE-1 que sejam efetivos e seletivos *in vivo*, sendo que algumas moléculas já começaram a ser estudadas em humanos [76]. O Elenbecestat, o Atabecestat, o Lanabecestat e o Verubecestat, que estão representados na Figura 6.1., foram testados em doentes com DA ligeira a moderada [71,76]. De entre as moléculas em estudo, apenas a primeira se encontra atualmente num ensaio clínico de fase III, tendo demonstrado eficácia e tolerabilidade ao promover a redução dos níveis de P $\beta$ A e alguma melhoria cognitiva, no entanto, os restantes compostos falharam em diferentes etapas dos ensaios clínicos [8, 71, 77]. O Verubecestat foi o primeiro inibidor da BACE-1 a atingir ensaios de fase III, tendo demonstrado reduzir as concentrações plasmáticas, no cérebro e no LCR da P $\beta$ A em animais e humanos, porém estudos posteriores à eficácia da molécula falharam, uma vez que a redução da P $\beta$ A produzida não evidenciou nenhum efeito sobre a diminuição da progressão da DA e a relação benefício/risco não era favorável [71].



**Figura 6.1.:** Estruturas moleculares de vários inibidores da BACE-1 alvo de ensaios clínicos. Adaptado de [71].

Já o Lanabecestat foi também alvo de vários ensaios clínicos <sup>[71]</sup>. Não obstante, em 2018 os estudos foram descontinuados devido à falta de eficácia, uma vez que não era um inibidor seletivo e bloqueava igualmente a BACE-2 levando à despigmentação da pele e cabelo, exibindo efeitos adversos adicionais a nível psiquiátrico <sup>[71, 78]</sup>.

Relativamente ao Atabecestat, este mostrou-se efetivo na redução da P $\beta$ A do LCR, pelo que foram iniciados ensaios clínicos de fase II e III em 2015, em que o primeiro avaliou a segurança e eficácia num tratamento prolongado, e o último avaliou o efeito do Atabecestat sobre o declínio cognitivo em doentes assintomáticos, mas em risco de desenvolver DA <sup>[71]</sup>. Ambos os estudos foram descontinuados devido à toxicidade hepática verificada <sup>[71]</sup>.

Ainda em ensaios clínicos, atualmente na fase II/III, encontra-se igualmente uma molécula denominada de Umibecestat, que atua de modo semelhante a um inibidor da BACE-1 <sup>[79]</sup>. Consiste num composto de elevado potencial para o tratamento da DA, uma vez que apresenta uma seletividade superior aos outros inibidores da BACE-1, tem elevada permeabilidade cerebral e o seu metabolismo não dá origem a metabolitos tóxicos, estando associado a um índice reduzido de efeitos adversos graves, como anormalidades imagiológicas relacionadas com a proteína  $\beta$  amilóide (ARIA) <sup>[79]</sup>.

A inibição completa da BACE-1 pode conduzir a défices na aprendizagem e memória, assim como disfunções sinápticas, retinopatia, convulsões e hipomielinização dado que a BACE-1 exerce um papel importante ao nível do metabolismo de uma proteína, a neuregulina, que é responsável pela mielinização dos neurónios <sup>[8, 75]</sup>.

A taxa de insucesso terapêutico demonstrado por inúmeras moléculas com ação inibidora da BACE-1 e a elevada quantidade de efeitos secundários observados, fazem com que ainda não se tenha conseguido descobrir um inibidor da BACE-1 que seja completamente seguro e eficaz <sup>[8]</sup>. Tal facto deve-se, à luz do conhecimento atual, à inexistência de informação suficiente relativa ao mecanismo que combina a inibição da BACE-1, a redução da P $\beta$ A e a importância da BACE-1 no estado cognitivo <sup>[8]</sup>. Para além disso, os níveis apropriados de redução da P $\beta$ A ou da inibição da BACE-1, necessários para serem considerados medicamentos modificadores da doença, ainda permanecem desconhecidos <sup>[8]</sup>.

Todas as moléculas aqui descritas neste capítulo encontram esquematizadas no Quadro 6.1.

**Quadro 6.1.:** Quadro resumo das moléculas inibidoras da BACE-1.

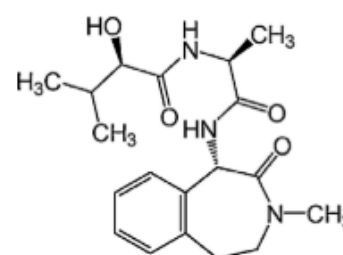
Fármaco	Mecanismo de ação	Indicação terapêutica	Fase do ensaio
<b>Elenbecestat</b>	Inibidor da BACE-1, levando à redução da produção de P $\beta$ A	DA ligeira a moderada	Atualmente a participar em ensaios de fase III
<b>Atabecestat</b>			Descontinuado
<b>Lanabecestat</b>			Descontinuado
<b>Verubecestat</b>			Descontinuado
<b>Umibecestat</b>			Atualmente a participar em ensaios de fase II/III

**BACE-1:**  $\beta$  secretase 1; **DA:** Doença de Alzheimer; **P $\beta$ A:** Proteína  $\beta$  amiloide.

### 6.1.2. Inibidores/ Moduladores da $\gamma$ secretase

A  $\gamma$  secretase é um complexo enzimático, cuja atividade proteolítica é determinada por uma das suas subunidades, a presenilina 1<sup>[50]</sup>; é responsável pelo processamento final da APP, levando à produção de dois fragmentos diferentes de P $\beta$ A<sup>[50]</sup>. Esta enzima é ainda importante no processamento de outras proteínas, como a proteína *Notch*, responsável pela regulação da proliferação, desenvolvimento, diferenciação e comunicação celular, assim como a sobrevivência celular<sup>[44]</sup>. Desta forma a inibição não específica da  $\gamma$  secretase pode resultar em efeitos adversos muito graves, constituindo um obstáculo à realização de ensaios clínicos<sup>[50]</sup>.

O Semagacestat (Figura 6.2.) foi o primeiro inibidor da  $\gamma$  secretase a ser submetido a ensaios clínicos de fase III, demonstrando ineficácia no que concerne à diminuição da progressão da doença, tendo-se inclusivamente observado um agravamento dos sintomas da DA em alguns doentes<sup>[8, 80]</sup>. Para além disto, o Semagacestat revelou efeitos adversos graves ao nível do trato gastrointestinal e aumentou significativamente o risco de desenvolvimento de cancro da pele<sup>[8, 80]</sup>.



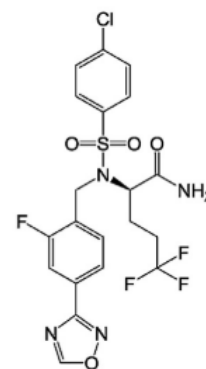
Semagacestat

**Figura 6.2.:** Estrutura molecular do Semagacestat. Adaptado de [8].

A explicação para o insucesso deste inibidor não seletivo da  $\gamma$  secretase, poderá estar relacionado com a capacidade desta molécula inibir também a proteína *Notch*, o que pode conduzir a vários efeitos secundários como os distúrbios hematológicos, problemas gastrointestinais e de pele, e ainda a mudança da coloração do cabelo<sup>[8]</sup>.

De forma a evitar a interação com a proteína *Notch* e deste modo melhorar o perfil de segurança, foram desenvolvidos os inibidores da  $\gamma$  secretase de 2ª geração [8]. A seletividade destes inibidores evita problemas com a sinalização da proteína *Notch*, e como consequência, não interfere com a sua ação [50].

Assim foi desenhado o Avagacestat (Figura 6.3.), que é um modulador/inibidor seletivo da  $\gamma$  secretase, que participou em ensaios de fase II, tendo sido, no entanto, descontinuado devido aos efeitos secundários semelhantes aos verificados no Semagacestat [8]. Para além disto, não foi verificada nenhuma melhoria a nível cognitivo, e só quando se administrava uma dose elevada é que havia redução dos níveis de P $\beta$ A [8]. Contudo, verificavam-se efeitos adversos muito graves e um declínio cognitivo [8].



Avagacestat

**Figura 6.3.:** Estrutura molecular do Avagacestat. Adaptado de [8].

Foi ainda testado outro inibidor da  $\gamma$  secretase, o Begacestat, altamente seletivo para a APP, não interferindo por isso com a proteína *Notch* [81]. No entanto, foi descontinuado em ensaios de fase I porque apenas demonstrava efeito sobre os níveis plasmáticos e cerebrais de P $\beta$ A, não sendo verificado qualquer efeito sobre a concentração da proteína presente no LCR [8].

Após o falhanço dos inibidores da  $\gamma$  secretase, foram desenvolvidos os moduladores da  $\gamma$  secretase (MGS), que se apresentam como uma opção mais promissora e segura [81]. Estes compostos interagem com a  $\gamma$  secretase através do local de ligação alostérico, e assim não interferem com o normal funcionamento da enzima, e consequentemente, com a função da proteína *Notch*, promovendo de igual modo a redução da deposição da P $\beta$ A [50, 81].

O desenvolvimento dos MGS iniciou-se após a observação, em cultura de células de rato, da capacidade que alguns anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) apresentavam para diminuir os níveis de P $\beta$ A, ao bloquear a clivagem de vários substratos da  $\gamma$  secretase [50]. Entre os AINEs com esta capacidade encontram-se o ibuprofeno, o sulindac, a indometacina e o flurbiprofeno, cuja estrutura molecular serviu de base ao desenvolvimento e otimização de novos compostos com propriedades de inibição específica da  $\gamma$  secretase [50, 82].

O primeiro MGS testado foi o tarenflurbil, que tem por base a estrutura do R-flurbiprofeno, tendo chegado a ensaios de fase III, demonstrando-se, no entanto, pouco

eficaz e com reduzida permeabilidade cerebral <sup>[82]</sup>. De modo semelhante, em testes realizados com o ibuprofeno verificou-se que este também não era eficaz <sup>[82]</sup>.

Foi testado posteriormente outro MGS que tem também ação sobre a neuroinflamação, o composto CHF5074 <sup>[81]</sup>. Este foi o primeiro MGS a demonstrar uma melhoria cognitiva em doentes com DA, conjugada com um perfil de segurança aceitável, e também não interferiu com a atividade da proteína *Notch* <sup>[8, 82]</sup>.

Outra molécula, EVP-0962, também um modulador da  $\gamma$  secretase derivado de AINEs, e administrado oralmente, mostrou reduzir a produção de P $\beta$ A e a formação de placas senis, revertendo alguns sintomas comportamentais verificados na DA e reduzindo a inflamação cerebral associada à DA <sup>[83]</sup>. Porém, foi descontinuado em ensaios de fase II sem que tivessem sido revelados os resultados do ensaio nem o que levou à sua descontinuação <sup>[83, 84]</sup>.

Outro composto, o NIC5-15, também conhecido como pinitol é um açúcar cíclico natural que funciona como modulador seletivo da  $\gamma$  secretase, induzindo a redução da produção de P $\beta$ A <sup>[83]</sup>. Mostrou uma boa tolerabilidade e segurança, assim como uma estabilização da cognição em doentes com DA <sup>[8]</sup>. Atualmente, encontra-se num ensaio clínico de fase II-B, cujo objetivo principal consiste em avaliar as alterações exercidas sobre a cognição <sup>[8, 83]</sup>.

As moléculas com capacidade de inibição/modulação da  $\gamma$  secretase abordadas encontram-se sistematizadas no Quadro 6.2.

**Quadro 6.2.:** Quadro resumo das moléculas inibidoras/moduladoras da  $\gamma$  secretase.

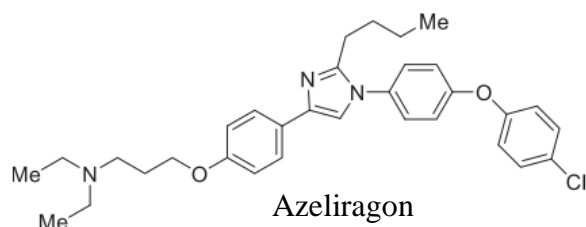
Fármaco	Mecanismo de ação
<b>Semagacestat</b>	Inibidor da $\gamma$ secretase
<b>Avagacestat</b>	Modulador/inibidor da $\gamma$ secretase
<b>Begacestat</b>	Inibidor da $\gamma$ secretase
<b>Tarenflurbil</b>	Modulador da $\gamma$ secretase
<b>CHF5074</b>	Modulador da $\gamma$ secretase
<b>EVP-0962</b>	Modulador da $\gamma$ secretase
<b>NIC5-15 (Pinitol)</b>	Modulador seletivo da $\gamma$ secretase

De um modo geral, as moléculas que têm como alvo farmacológico a  $\gamma$  secretase mostram ter como efeito adverso o aumento do risco de cancro, principalmente na pele, e em alguns casos o declínio da função cognitiva nos doentes com DA, indiciando que a  $\gamma$  secretase poderá eventualmente não constituir o melhor alvo terapêutico para o tratamento da DA [80].

### 6.1.3. Aumento da *clearance* da P $\beta$ A

A *clearance* da P $\beta$ A constitui outro mecanismo possível de tratamento para a DA, sendo que para isso múltiplas enzimas ou outros componentes responsáveis pela *clearance* podem ser alvo de moléculas que favoreçam este processo [75].

Neste contexto, foi desenvolvido o Azeliragon (Figura 6.4.); que é uma pequena molécula oral inibidora dos recetores para produtos de glicação avançada, cuja função consiste em mediar o transporte de P $\beta$ A para o cérebro, evidenciando uma maior atividade na DA [71]. Ao estarem bloqueados, o transporte de P $\beta$ A é interrompido, diminuindo os seus níveis no cérebro [71]. O Azeliragon foi submetido a um ensaio de fase II em doentes com DA ligeira, mostrando uma melhoria da cognição após 18 meses de tratamento, tendo-se posteriormente iniciado um ensaio de fase III que foi descontinuado por não se ter verificado eficácia [71].



**Figura 6.4.:** Estrutura molecular do Azeliragon. Adaptado de [71].

As características destas moléculas encontram-se descritas em resumo no Quadro 6.3.

**Quadro 6.3.:** Quadro resumo das moléculas com capacidade de aumentar a *clearance* da P $\beta$ A.

Fármaco	Mecanismo de ação	Fase do ensaio
<b>Azeliragon</b>	Inibidor dos recetores para produtos de glicação avançada	Descontinuado

#### 6.1.4. Imunoterapia

A imunoterapia anti-P $\beta$ A pode ser dividida em passiva e ativa, em que na passiva são administrados anticorpos pré-preparados, e na ativa o sistema imunitário é estimulado a produzir os seus próprios anticorpos [8, 75]. A técnica da imunização tem sido usada para prevenir a formação de placas senis e para aumentar a *clearance* da P $\beta$ A das células neuronais, podendo de igual modo exercer o seu efeito sobre os EN [75].

Os anticorpos anti-P $\beta$ A podem atuar através de inúmeros mecanismos, tais como a ativação da resposta fagocitária pelas células da glia, o aumento da *clearance* da P $\beta$ A interagindo com ela, a indução de alterações na P $\beta$ A que levam à sua própria *clearance* e o bloqueio da toxicidade associada à P $\beta$ A [75].

A imunização ativa pode-se apresentar como mais ou menos vantajosa [8]; a vantagem deste tipo de imunização advém da boa resposta dos anticorpos com poucas vacinações devido ao facto de os anticorpos policlonais apresentarem múltiplas especificidades contra a P $\beta$ A [8]. Porém, isto pode também constituir um problema devido aos efeitos adversos dos anticorpos policlonais, sendo que estes efeitos vão depender dos epítomos aos quais os anticorpos se ligam e da existência de reações cruzadas de anticorpos [8, 85].

A primeira vacina ativa anti-P $\beta$ A, denominada de AN1792, era composta por P $\beta$ A (P $\beta$ A<sub>1-42</sub>) sintética e por um adjuvante imuno-estimulador (QS-21) [8]. Os ensaios clínicos de fase I demonstraram uma boa segurança e tolerabilidade, porém na fase IIa, foram registados casos de meningoencefalite asséptica em alguns doentes com DA intervenientes no estudo, originando a interrupção do ensaio [80]. O follow-up da fase I, após 6 anos da imunização, não revelou diferenças na cognição entre o grupo que foi imunizado e o que recebeu o placebo, apesar de estudos patológicos pós-morte em alguns doentes, terem revelado um aumento da *clearance* de placas senis do cérebro [80]. Tal como o follow-up da fase I, o da fase IIa também não demonstrou diferenças cognitivas entre o grupo que recebeu a AN1792 e o que recebeu o placebo [80].

De forma a evitar o aparecimento de meningoencefalite foi desenvolvida uma nova vacina, a CAD106 que contém um fragmento  $\beta$ A<sub>1-6</sub> acoplado a uma proteína do revestimento do bacteriófago QB que funciona como adjuvante [8]. Os ensaios de fase I mostraram a indução de anticorpos anti-P $\beta$ A, a segurança e tolerabilidade desta imunização, não tendo sido descritos casos de meningoencefalite [80]. Na fase II não foram

detetados efeitos adversos relevantes, contudo o estudo não demonstrou eficácia clínica quando comparado o grupo que recebeu o placebo e o que foi imunizado, e os ensaios foram terminados [8].

A vacina seguinte a ser testada foi a ACC-001 que continha um fragmento de  $\beta A_{1-7}$ , acoplado com a toxina da difteria inativa a funcionar como transportador [80]. Em ensaios de fase II, a ACC-001 foi administrada com e sem o adjuvante QS-21 em doentes com DA ligeira a moderada, sendo que a ACC-001 administrada juntamente com o QS-21, levou a um aumento da sua concentração e a um aumento de anticorpos anti-P $\beta A$ , comparativamente à administração da ACC-001 sem o adjuvante [80]. Para além disto, verificaram-se ainda efeitos adversos associados a fortes respostas imunes [8]. Relativamente à cognição, não foram encontradas diferenças entre os grupos a receber o tratamento e o placebo, e desta forma, esta imunoterapia foi descontinuada [80].

Foram desenvolvidas inúmeras outras alternativas imunoterapêuticas, como a ACI-24 que é uma vacina com lipossomas contra o péptido  $\beta A_{1-15}$ , a UB-311 que é uma vacina anti- $\beta A_{1-14}$ , entre outras, sendo que algumas destas vacinas ainda se encontram a participar em ensaios clínicos [80].

Todas estas vacinas descritas encontram-se em resumo no Quadro 6.4.

**Quadro 6.4.:** Quadro resumo das moléculas testadas como imunoterapia ativa anti-P $\beta A$ .

Fármaco	Mecanismo de ação	Fase do ensaio
<b>AN1792</b>	Vários mecanismos de ação, como a ativação da resposta fagocitária, aumento da <i>clearance</i> da P $\beta A$ e bloqueio da toxicidade associada à P $\beta A$	Descontinuado
<b>CAD106</b>		Descontinuado
<b>ACC-001</b>		Descontinuado
<b>ACI-24</b>		A participar em ensaios clínicos
<b>UB-311</b>		

**P $\beta A$ :** Proteína  $\beta$  amiloide

Embora as imunoterapias sejam potencialmente efetivas para o tratamento a longo prazo, estão comumente associadas a algumas limitações [80]. Nos indivíduos idosos, as respostas imunitárias são geralmente mais fracas do que em indivíduos mais jovens, o que significa que a imunização ativa pode não induzir uma resposta adequada e pode

gerar efeitos adversos autoimunes, como a meningoencefalite asséptica verificada em doentes com DA [8, 80].

A administração direta de imunoterapia passiva, utilizando anticorpos sintéticos específicos para a P $\beta$ A pode ultrapassar estes problemas se os referidos anticorpos não interagirem com os próprios antigénios [80]. Assim, foram desenvolvidos múltiplos anticorpos monoclonais (Acm) contra vários epítomos de P $\beta$ A, sendo que existem dois mecanismos para explicar a redução de P $\beta$ A induzida pelos Acms [80]. Um deles postula que há a ativação da microglia, que passa a reconhecer e a eliminar as placas senis, e o outro mecanismo teoriza que vai existir uma diminuição da P $\beta$ A solúvel em circulação devido à ligação do Acm à P $\beta$ A, o que faz com que haja uma alteração no equilíbrio entre a P $\beta$ A presente no cérebro e perifericamente, sendo responsável por promover a eliminação da P $\beta$ A cerebral [63, 80].

O primeiro Acm a ser testado foi o Bapinezumab consistindo numa imunoglobulina humanizada que reconhece a terminação  $\beta$ A<sub>1-5</sub> [80]. Este Acm liga-se à P $\beta$ A solúvel e fibrilar, ativando a fagocitose da P $\beta$ A mediada pelas células da glia [80]. Apesar de se ter verificado alguma *clearance* da P $\beta$ A fibrilar em ensaios de fase II, na fase III não se confirmou a eficácia terapêutica para além de terem sido observados efeitos adversos graves, como edema cerebral, microhemorragias cerebrais, trombose, síncope e ARIA, colocando em causa a continuidade dos estudos [8, 80].

Com o Solanezumab, que é um Acm que se liga na região  $\beta$ A<sub>16-26</sub>, já se obtiveram melhores resultados [8, 80]. Este Acm reconhece apenas a P $\beta$ A monomérica, solúvel e tóxica, apresentando uma maior seletividade [63, 80]; ao ligar-se apenas à fração solúvel vai levar à redução da P $\beta$ A<sub>1-42</sub> ao inverter o equilíbrio de produção de P $\beta$ A, passando a existir uma maior produção de espécies de P $\beta$ A mais curtas e menos tóxicas [63, 80]. O Solanezumab foi sujeito a ensaios de fase III, sendo que no ensaio foi administrado esta terapêutica a doentes com DA moderada a grave, não tendo sido detetada qualquer redução das capacidades cognitivas [80]. No entanto, ao analisarem cada subgrupo, baseado na severidade da doença, observaram que no subgrupo dos doentes com DA moderada houve um abrandamento do declínio cognitivo e funcional, sugerindo que esta terapêutica poderia ser efetiva em fases iniciais da doença [8, 80]. Em seguimento destes resultados promissores, foi iniciado um novo ensaio clínico de fase III em doentes com DA moderada, contudo, o Solanezumab não mostrou eficácia e o estudo foi descontinuado [80].

Outros Acm foram sujeitos a ensaios clínicos, como o Crenezumab e o Aducanumab, todavia, para além de exibirem efeitos secundários graves como ARIA, ambos falharam no seu principal objetivo, que era aumentar a *clearance* da P $\beta$ A através da fagocitose mediada pelas células da glia [8, 75, 81, 86, 87].

Todos estes Acm's referidos encontram-se sistematizados no Quadro 6.5.

**Quadro 6.5.:** Quadro resumo das moléculas testadas como imunoterapia passiva anti-P $\beta$ A.

Fármaco	Mecanismo de ação	Fase do ensaio
<b>Bapinezumab</b>	Ativação da fagocitose da P $\beta$ A mediada pelas células da glia	Descontinuado
<b>Solanezumab</b>	Diminuição da produção da P $\beta$ A tóxica	Descontinuado
<b>Crenezumab</b>	Ativação da fagocitose da P $\beta$ A mediada pelas células da glia	Descontinuado
<b>Aducanumab</b>		Descontinuado
P $\beta$ A: Proteína $\beta$ amiloide		

## 6.2. Terapêuticas que têm como alvo a proteína tau

Devido aos constantes falhanços das terapêuticas anti-amilóide, pensou-se no design de fármacos anti-proteína tau [88].

A tau é uma proteína associada aos microtúbulos que está envolvida na estabilidade dos axónios [88]. Na DA esta proteína é hiperfosforilada, levando à sua separação dos microtúbulos e consequente acumulação no citoplasma [88]. Os tratamentos que têm como alvo a PT apresentam inúmeros mecanismos de ação e incluem a inibição da fosforilação da PT, a estabilização dos microtúbulos, inibição da agregação da PT e ainda a imunoterapia anti-tau [8, 51].

### 6.2.1. Imunoterapia direcionada à proteína tau

A imunoterapia direcionada para a PT visa prevenir a formação de EN, uma vez que os anticorpos daí resultantes se irão ligar a estes e mediar a sua *clearance* [51]. Isto é possível porque os anticorpos usados têm a capacidade de atravessar a BHE, ligando-se aos neurónios e posteriormente à PT [8].

Na imunização ativa são administrados fragmentos fosforilados de PT encontrados em EN, de forma a que o organismo produza uma resposta imune contra os mesmos, conduzindo deste modo à *clearance* dos agregados de PT <sup>[51]</sup>.

Atualmente existem 2 vacinas ativas em ensaios clínicos, a ACI-35 e a AADvac-1 <sup>[89]</sup>. A ACI-35, consiste numa vacina composta de um fragmento tau, um transportador e um adjuvante, sendo que atualmente se encontra a participar num ensaio clínico de fase I <sup>[89, 90]</sup>. Esta vacina induz uma resposta imune que tem como alvo terapêutico certas conformações da PT fosforilada e como consequência, reduz a sua concentração no cérebro <sup>[90]</sup>. Quando foi testada em animais, mostrou reduzir a PT hiperfosforilada, assim como os ENs, e não evidenciou efeitos adversos relevantes <sup>[89, 90]</sup>. Atualmente, ainda se encontra a participar em ensaios clínicos que têm como objetivo comparar a sua segurança e eficácia relativamente ao placebo quando administrada em doentes com DA ligeira a moderada, assim como determinar a sua tolerabilidade e imunogenicidade <sup>[91]</sup>.

Já a AADvac-1 é uma vacina que induz a produção de anticorpos que se vão ligar aos epítomos na região de ligação da PT nos microtúbulos de forma a prevenir a sua agregação, promovendo na mesma medida a *clearance* da PT fosforilada <sup>[92]</sup>. Quando testada em ratos de laboratório, revelou propiciar uma redução de EN e de PT insolúvel <sup>[92]</sup>. Em humanos, a vacina é altamente imunogénica, induzindo a produção de anticorpos IgG contra a PT, capazes de reconhecer a PT insolúvel presente em cérebros com DA <sup>[92]</sup>. O tratamento com esta vacina mostrou ser seguro, sendo que o único efeito adverso apontado consistiu em reações no local de injeção <sup>[89, 92]</sup>. A AADvac-1 está atualmente a participar num ensaio de fase II para o tratamento da DA <sup>[92]</sup>.

A imunização ativa anti-tau apresenta vantagens e desvantagens, na medida em que poderá ser possível alcançar o efeito desejado sobre a PTF, mas estará altamente associado a um risco iminente de encefalite <sup>[89]</sup>. Para além disto, o sucesso do tratamento vai estar sempre dependente da resposta imune produzida, que pode variar consoante os indivíduos, existindo também o risco de se desenvolver tolerância após imunizações repetidas <sup>[89]</sup>.

Relativamente à imunização passiva, esta é uma alternativa menos perigosa que a imunização ativa, já que são utilizados Acm direcionados à PT fosforilada <sup>[8]</sup>.

Já existem algumas alternativas de vacinas passivas, como a RG7345 que é composta de anticorpos humanizados provenientes de Acm de coelho <sup>[91]</sup>. Em testes

conduzidos em ratos transgênicos, a RG7345 mostrou reduzir a PT fosforilada, tendo sido posteriormente administrada no decorrer de ensaios de fase I em indivíduos sãos com o intuito de avaliar a sua segurança, sem, no entanto, auferir sucesso <sup>[91]</sup>.

Foi desenvolvida também uma outra vacina, denominada de BMS-986168, com base na observação da capacidade manifestada pelas células estaminais de doentes com DA familiar em produzir fragmentos de PT, designados por e-tau <sup>[91]</sup>. Os resultados obtidos nos estudos pré-clínicos evidenciaram uma redução significativa dos níveis de PT e P $\beta$ A no cérebro, tendo sido já avaliados os efeitos da vacina sobre a PT presente no LCR e confirmada a sua tolerabilidade em ensaios clínicos de fase I <sup>[91]</sup>. Atualmente, o potencial terapêutico da vacina encontra-se em estudo num ensaio de fase II <sup>[91]</sup>.

Adicionalmente, encontram-se também em ensaios de fase II a vacina LY3303560 que se liga e neutraliza os agregados de PTF, a C2N-8E12, cujo efeito é independente da capacidade de penetração nos neurónios, e ainda a RO7105705 <sup>[91]</sup>.

As imunoterapias abordadas neste capítulo encontram-se descritas no Quadro 6.6.

**Quadro 6.6.:** Quadro resumo das moléculas testadas como imunoterapia anti-tau.

Vacinação ativa		
Fármaco	Mecanismo de ação	Fase do ensaio
<b>ACI-35</b>	Ativação da <i>clearance</i> da PTF	A participar em ensaios clínicos
<b>AADvac-1</b>	Ativação da <i>clearance</i> da PTF e impede a agregação da PTF	Atualmente a participar num ensaio de fase II
Vacinação passiva		
Fármaco	Mecanismo de ação	Fase do ensaio
<b>RG7345</b>	Induz a redução da PTF, ao aumentar a <i>clearance</i> desta	Descontinuado
<b>BMS-986168</b>		A participar num ensaio de fase II
<b>LY3303560</b>	Liga-se aos agregados de PTF e neutraliza-os	A participar num ensaio de fase II
<b>C2N-8E12</b>	Conduz à redução da PTF, desconhecendo-se o mecanismo de ação	A participar num ensaio de fase II
<b>RO7105705</b>		A participar num ensaio de fase II
<b>PTF:</b> Proteína tau fosforilada		

### 6.2.2. Bloqueio da fosforilação da proteína tau

A PT fosforilada tem tendência a agregar-se e a levar à perda da estabilidade dos microtúbulos, conduzindo à degeneração dos neurónios <sup>[8]</sup>. Como a agregação da PT é induzida pela P $\beta$ A, os EN vão aparecer no cérebro mais tarde que as placas senis <sup>[8]</sup>.

Assim, o desenvolvimento de compostos com potencial para prevenir a formação dos EN por inibição da fosforilação poderá vir a constituir uma via promissora para estabelecer um tratamento efetivo para a DA, especialmente na fase sintomática <sup>[8]</sup>.

Posto isto, existem várias proteínas quinases que vão estar envolvidas na fosforilação da PT, sendo que a enzima mais importante é a GSK3 $\beta$ , já que foi observado que a sua concentração está elevada quando é iniciado o processo de deposição da P $\beta$ A, e assim os inibidores desta proteína poderão constituir potenciais alvos terapêuticos <sup>[8, 93]</sup>.

O Tideglusib é um inibidor reversível da GSK3 $\beta$  que não compete com o ATP, e apresenta também atividade sobre a BACE <sup>[91]</sup>. Em modelos animais da DA, este composto reduziu a fosforilação da PT, assim como os défices de memória e a morte neuronal <sup>[91]</sup>. A administração de uma dose diária de Tideglusib a um grupo de doentes com DA, promoveu melhorias na cognição comparativamente ao placebo <sup>[91]</sup>. Já num ensaio de fase II, o tratamento com Tideglusib revelou uma melhoria cognitiva e uma redução dos níveis da  $\beta$  secretase, porém quando a totalidade do estudo foi analisada constatou-se que apesar da boa tolerabilidade, não existiram melhorias significativas <sup>[91]</sup>.

O lítio é também um inibidor da GSK3 $\beta$ , tendo sido demonstrado em culturas de células que este previne a toxicidade provocada pela P $\beta$ A e a fosforilação da PT, dado que o tratamento com o lítio está associado a uma diminuição da PTF no LCR <sup>[91, 93]</sup>. Vários estudos clínicos conduzidos em doentes com DA revelaram alguns resultados positivos e poucos efeitos adversos; em estudos mais recentes a administração de doses reduzidas de lítio a doentes com DA durante 15 meses indicou que este tratamento resultou numa estabilização dos sintomas cognitivos, enquanto que os doentes tratados com o placebo mostraram declínio cognitivo <sup>[91, 93]</sup>.

Encontra-se igualmente em estudo uma molécula bastante promissora, o LMTX, que é um derivado do azul de metileno, que atualmente está a fazer parte de ensaios clínicos de fase III <sup>[8, 94]</sup>. O LMTX atua como inibidor da fosforilação da PT e tem capacidade de aumentar a *clearance* da PT do cérebro, possuindo ainda para além disto,

atividade anti-agregante da P $\beta$ A [8, 94]. Os primeiros resultados obtidos de testes iniciais confirmaram a eficácia do LMTX, porém os últimos dados obtidos no ensaio de fase III indicaram a ausência de efeitos ao nível da diminuição da progressão da doença [91, 94].

Todas as moléculas abordadas neste capítulo com ação de bloquear a fosforilação da proteína tau, encontram-se sistematizadas no Quadro 6.7.

**Quadro 6.7.:** Quadro resumo das moléculas testadas com objetivo de bloquear a fosforilação da proteína tau.

Fármaco	Mecanismo de ação	Fase do ensaio
<b>Tideglusib</b>	Inibidor reversível da GSK3 $\beta$ e com atividade sobre a BACE	Descontinuado
<b>Lítio</b>	Inibidor da GSK3 $\beta$ e previne toxicidade provocada pela P $\beta$ A	Atualmente a participar em ensaios clínicos
<b>LMTX</b>	Inibidor da fosforilação da PT, aumenta a sua <i>clearance</i> do cérebro e tem atividade antiagregante da P $\beta$ A	Descontinuado

**BACE:**  $\beta$  secretase; **GSK3 $\beta$ :** *Glycogen synthase kinase 3 beta*; **P $\beta$ A;** Proteína  $\beta$  amilóide;  
**PT:** Proteína tau

### 6.2.3. Estabilizadores dos microtúbulos

Os microtúbulos são essenciais para inúmeras funções, principalmente a transmissão de um sinal elétrico do axónio até à sinapse, a formação de um citoesqueleto celular, quimiotaxia e divisão celular [51]. A função e a estrutura dos microtúbulos depende de várias proteínas, entre elas a PT [51]. Assim, sabendo que a fosforilação da PT contribui para a destabilização dos microtúbulos, o tratamento com estabilizadores destas estruturas poderá constituir uma boa hipótese de tratamento para a DA [51].

A epotilona D é uma molécula inicialmente usada como antifúngica, cuja atividade sobre os microtúbulos foi descoberta numa fase mais tardia, tendo a capacidade de os estabilizar [91].

Em estudos preliminares, a epotilona D aumentou o número de microtúbulos e reduziu o número de axónios anormais em ratos com PT transgénica [91]. Noutros modelos de tauopatias em ratos, esta molécula mostrou melhorar a cognição e reduziu a quantidade

de PTF <sup>[91]</sup>. Após estes testes, foi iniciado um ensaio clínico de fase I com o objetivo de avaliar a segurança, eficácia e a farmacodinâmica desta molécula em doentes com DA, mas este estudo foi descontinuado, presumivelmente, devido aos efeitos adversos observados <sup>[91]</sup>.

A davunetida, também conhecida por NAP, é um fragmento de 8 aminoácidos de um péptido neuroprotetor que penetra nos neurónios e atua diretamente sobre os microtúbulos <sup>[95]</sup>. A NAP tem mostrado uma melhoria na capacidade cognitiva em ratos <sup>[91]</sup>; em modelos transgênicos de DA, a NAP reduziu a PTF e melhorou a cognição e o transporte entre axónios <sup>[91]</sup>. Num ensaio clínico de fase II realizado em doentes com um comprometimento cognitivo ligeiro não se verificou qualquer efeito sobre a cognição comparativamente com o grupo a receber o placebo, tendo sido por esta razão descontinuado <sup>[91]</sup>.

Foram também iniciados estudos com o composto TPI 287, também conhecido por abeotaxano, que é um derivado sintético do taxol usado em terapias anticancerígenas, com capacidade de se ligar à tubulina e com propriedades estabilizadoras dos microtúbulos, apresentando capacidade de transpor a BHE <sup>[8,91]</sup>. Esta molécula foi testada em doentes com DA ligeira a moderada, num ensaio clínico de fase I, sendo que os resultados ainda não foram divulgados <sup>[8]</sup>.

Todos estes estabilizadores de microtúbulos descritos encontram-se resumidos no Quadro 6.8.

**Quadro 6.8.:** Quadro resumo das moléculas testadas estabilizadoras dos microtúbulos.

Fármaco	Mecanismo de ação	Fase do ensaio
<b>Epotilona D</b>	Aumenta o número de microtúbulos e estabiliza-os	Descontinuado
<b>Davunetida ou NAP</b>	Atua diretamente sobre os microtúbulos, estabilizando-os	Descontinuado
<b>TPI 287 ou Abeotaxano</b>	Estabilizador dos microtúbulos e capacidade de ligação à tubulina	Participou num ensaio de fase I, não tendo sido ainda revelados os resultados

#### 6.2.4. Inibição da agregação da PTF

Após a fosforilação da PT esta pode-se agregar levando à formação dos EN, sendo que estes por sua vez vão sequestrar componentes celulares neuronais, levando à neurotoxicidade. A prevenção da agregação da PTF poderá constituir uma terapêutica interessante [63].

Assim, descobriu-se que os derivados do azul de metileno podem evitar a agregação da PTF, levando à redução do stress oxidativo, prevenindo os danos mitocondriais e preservando a função cognitiva, tudo isto demonstrado em ensaios realizados em ratos [63].

O rember é um inibidor da agregação da PTF de 1ª geração, tendo mostrado alguma melhoria nos sintomas relacionados com a DA, porém falhou em ensaios clínicos de fase II devido à ocorrência de efeitos adversos relevantes, como a diarreia, disúria, urgência miccional, tonturas e quedas [83]. Posteriormente foi descoberta outra molécula, a LMTM, que é um antiagregante de PTF de 2ª geração, e está neste momento a ser sujeito a novos ensaios clínicos de fase III, após ter falhado nos estudos clínicos anteriores [83].

Estas moléculas com ação inibitória da agregação da PTF encontram-se sistematizadas no Quadro 6.9.

**Quadro 6.9.:** Quadro resumo das moléculas testadas com capacidade de inibir a agregação da PTF.

Fármaco	Mecanismo de ação	Fase do ensaio
<b>Rember</b>	Inibidor da agregação da PTF de 1ª geração	Descontinuado
<b>LMTM</b>	Antiagregante de PTF de 2ª geração	Atualmente a participar num ensaio clínico de fase III
<b>PTF:</b> Proteína tau fosforilada		

Atualmente, inúmeros ensaios clínicos estão em prática ou à espera de análise, mas pensa-se que os próximos anos sejam proveitosos e que nos forneçam informação adicional relativa à potencialidade das terapêuticas anti-tau [91].

### **6.3. Outras estratégias de tratamento**

Como atualmente só existem no mercado 2 classes de compostos para o tratamento da DA, e devido ao insucesso clínico de outras abordagens de tratamento, nos últimos anos tem sido reunidos esforços no sentido de descobrir outras terapêuticas que sejam igualmente proveitosas para o tratamento da doença [7].

#### **6.3.1. Antioxidantes**

Cada vez mais é conhecido a importância do stress oxidativo na DA, e desta forma o foco das terapêuticas tem mudado para o uso de antioxidantes com efeito curativo e profilático da DA [7].

A vitamina E tem um efeito antioxidante, porém foi clinicamente demonstrado que a administração de vitamina E em doentes com DA faz diminuir os níveis de stress oxidativo, mas não se verificaram diferenças a nível cognitivo nem previne a demência [96].

Para além da vitamina E, o Ginkgo Biloba tem sido também usado para atenuar o declínio em função da idade, sem que se tenha verificado alteração dos níveis da P $\beta$ A [7].

A ubiquinona, que é um análogo sintético do antioxidante Q10, mostrou alguma melhoria cognitiva em doentes com DA, mas o uso de ácidos gordos de ómega 3 na DA ligeira a moderada não demonstrou qualquer benefício terapêutico [7].

Apesar dos resultados obtidos em ensaios que preconizam que os antioxidantes possam desempenhar um papel no retardamento do declínio cognitivo, isto não garante que possam constituir uma forma de tratamento efetivo para a DA [43].

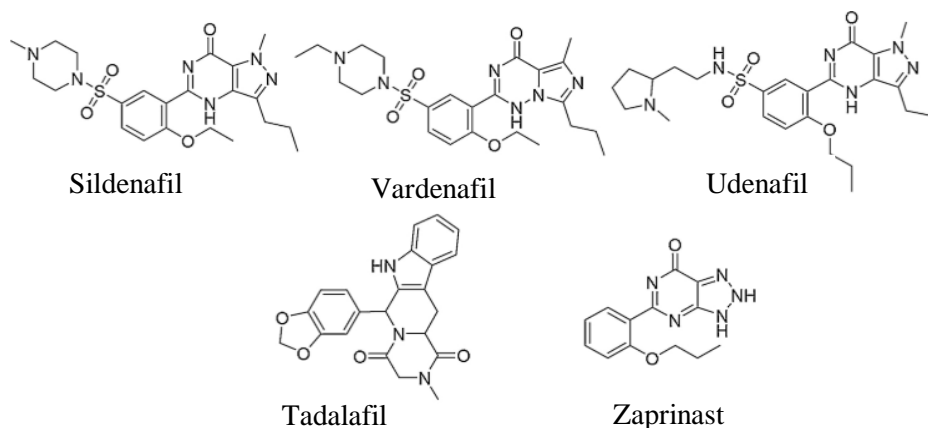
#### **6.3.2. Anti-inflamatórios não esteróides**

Vários estudos indicam que o risco de DA está diminuído em pessoas que tomam habitualmente AINEs, pelo que devido a isto os AINEs já foram alvo de vários ensaios clínicos para o tratamento da DA [7, 75]. Já que os AINEs poderão constituir uma opção segura para o tratamento da DA, comparativamente com outras opções farmacológicas, pensa-se que se deve investir em mais estudos direcionados para avaliar o potencial da aplicação desta classe farmacoterapêutica no tratamento da DA de forma a validar a sua eficácia clínica nesta doença [7, 75].

Anteriormente pensava-se que o papel dos AINEs na DA se relacionava com o seu efeito inibitório sobre as ciclo-oxigenases (COX) 1 e 2 [75]; porém descobriu-se que a deposição da P $\beta$ A é independente das COX, e assim os efeitos benéficos dos AINEs sobre a DA terão de ser justificados por outro mecanismo [75]. Considerando o seu potencial, urge a necessidade de explorar profundamente estes medicamentos de forma a atingir mais resultados clínicos [75].

### 6.3.3. Inibidores das fosfodiesterases

A fosfodiesterase 5 (PDE5) é uma enzima específica para o monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), e é comumente usada na disfunção erétil e na vasodilatação [75]. O Sildenafil, o Tadalafil, o Udenafil, o Zaniprinast e o Vardenafil (Figura 6.5.) são inibidores seletivos da PDE5 que foram clinicamente testados, revelando ter um papel significativo na melhoria da linguagem e memória, estando também associados à redução dos níveis de P $\beta$ A em modelos animais [75].



**Figura 6.5.:** Exemplos de alguns inibidores da PDE5. Adaptado de [75].

A expressão da fosfodiesterase 9 (PDE9) está aumentada no cérebro de doentes com DA, e desta forma os inibidores da PDE9 mostraram-se promissores na melhoria das disfunções cognitivas [75].

### 6.3.4. Sistema endocanabinóide

O sistema endocanabinóide constitui o novo alvo terapêutico para a DA devido às suas propriedades anti-inflamatórias e neuroprotetivas, sendo-lhe igualmente atribuída grande importância na cognição e na toxicidade induzida pela P $\beta$ A [75]. Os agonistas de alguns dos recetores deste sistema demonstraram a capacidade de inibir a toxicidade induzida pela P $\beta$ A e a PTF [75]. Em contraste, antagonistas destes recetores também

evidenciaram desempenhar um papel determinante na redução do déficit cognitivo [70]. Desta forma, o desenvolvimento de agonistas e antagonistas dos recetores do sistema endocanabinóide pode vir a ser justificado devido ao seu potencial efeito sobre a aprendizagem e memória [75].

### 6.3.5. Antidiabéticos

Uma vez que o fenómeno de insulinoresistência é geralmente observado em cérebros com DA, o tratamento com insulina, quer por via intravenosa, quer por via intranasal poderá contribuir para a melhoria da performance a nível da memória em doentes com DA [23].

Em casos em que a insulinoresistência é severa, e os níveis de insulina cerebrais são elevados, o aumento da insulina, nestas condições, pode ajudar a baixar os níveis de P $\beta$ A [23]. Tal facto foi demonstrado num estudo conduzido em ratos induzidos com DA em concomitância com diabetes *mellitus* tipo II em que se verificou que uma única injeção de insulina promovia não só a melhoria da sinalização desencadeada pela insulina nos tecidos periféricos como também reduzia a P $\beta$ A no cérebro [23].

Ensaio preliminares com insulina intranasal em modelos animais sugerem que este tratamento pode ter alguns efeitos positivos tanto na memória como na evolução e progressão da doença [23]. A hipótese para este fenómeno assenta no facto de a insulina intranasal poder influenciar diretamente a cognição ao atuar sobre os recetores de insulina cerebrais de forma a ultrapassar a resistência [23].

Os recetores ativados por proliferadores de peroxissoma do tipo  $\gamma$  (PPAR-  $\gamma$ ) têm um papel importante no metabolismo da glucose e dos lípidos, sendo que a maioria destes é encontrada no cérebro [75]. A ativação dos PPAR-  $\gamma$  pode ser eficaz em lesões neuronais e na neurodegeneração [75].

Os agonistas dos PPAR-  $\gamma$  mostraram inibir a agregação da P $\beta$ A e a libertação de mediadores inflamatórios como as citocinas, exibindo de modo similiar um papel ativo na *clearance* da P $\beta$ A e na desagregação das placas senis [75]. Na verdade, inúmeros agonistas dos PPAR-  $\gamma$  da família das glitazonas foram já testados para o tratamento da DA, porém devido à ocorrência de vários efeitos adversos, como problemas cardiovasculares, ganho de peso e retenção de líquidos, os ensaios foram suspensos [75]. Muitos outros agonistas dos PPAR-  $\gamma$  foram desenvolvidos para o tratamento da DA,

como o bexaroteno (falhou num ensaio clínico de fase II, já que não se verificou redução da P $\beta$ A e apresentava efeitos adversos associados), o DSP-8658 e o T3D-959 (atualmente é parte integrante de um ensaio clínico de fase II após evidenciar boa tolerabilidade e redução da insulinoresistência no cérebro) [75, 97, 98].

### **6.3.6. Estatinas**

As estatinas são medicamentos de 1<sup>a</sup> linha para o tratamento de hiperlipidemia e para a prevenção da doença coronária através da inibição da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-Coenzima A redutase (HMGCoA redutase) [75].

Vários estudos demonstraram que os níveis elevados de colesterol contribuem para um aumento da produção e acumulação da P $\beta$ A, reforçando a hipótese de que as estatinas podem ser usadas para o tratamento da DA [23, 30].

Posto isto, verificou-se que doentes sob terapêutica antilipidémica com lovastatina e pravastatina tinham uma menor prevalência de DA [75]. A sinvastatina também demonstrou reduzir a produção e deposição de P $\beta$ A em estudos conduzidos em animais, observando-se igualmente a melhoria da performance cognitiva em humanos doentes avaliados por um período temporal de 10 anos [75]. Não obstante, vários ensaios clínicos reportaram resultados que sugerem que as estatinas poderão não ser tão eficazes na DA como inicialmente era postulado [30, 75]. São múltiplas as razões apontadas para tal, incluindo a sua baixa permeabilidade cerebral, a ocorrência de efeitos adversos associados, um declínio excessivo dos níveis de colesterol nas células neuronais e a modulação de enzimas metabólicas [75]. Inclusivamente, alguns estudos argumentam que as estatinas podem induzir disfunções cognitivas, uma vez que o colesterol presente nos axónios é importante para a aprendizagem e memória [75].

De acordo com estes resultados considera-se que as estatinas poderão exercer uma ação preventiva exibindo igualmente a capacidade de modificar a doença [75]. Todavia, dado que existem vários ensaios contraditórios relativamente ao uso de estatinas em doentes com DA, afigura-se premente a realização de investigação adicional na área para estabelecer e clarificar o papel exato das estatinas no tratamento da DA [30, 75].

### **6.3.7. Quelantes metálicos**

De acordo com a hipótese do stress oxidativo, vários elementos metálicos, como o Al, o Hg, Fe, Cu e o Zn são responsáveis pela produção de espécies reativas de oxigénio,

induzindo stress oxidativo <sup>[75]</sup>. Estes elementos são ainda responsáveis pela promoção da agregação e deposição da P $\beta$ A, pelo que os quelantes metálicos podem ser usados para atenuar a deposição da P $\beta$ A ao facilitarem a dissolução dos seus agregados insolúveis <sup>[75]</sup>.

Já foram sujeitos a ensaios clínicos vários quelantes metálicos para a amiloidopatia e para a tauopatia, como o clioquinol (foi descontinuado porque o seu processo de formação gerava um contaminante tóxico), o dimercaptopropanol, a desferrioxamina, entre outros <sup>[75, 99]</sup>.

### **6.3.8. Inibidores da BuChE**

A BuChE é uma AChase não específica responsável pela hidrólise de ésteres como a acetilcolina e a butirilcolina <sup>[75]</sup>. A BuChE está presente em maior quantidade nos tecidos periféricos pelo que a inibição desta enzima está fortemente ligada a efeitos adversos na periferia <sup>[75]</sup>. Dados recentes revelaram que são encontrados níveis elevados de BuChE tanto nos EN como nas placas senis durante a progressão da DA <sup>[75]</sup>.

Uma experiência com inibidores seletivos da BuChE, como a tacrina e a fisostigmina, demonstrou a sua influência sobre a atividade das placas senis e dos EN, referindo igualmente a sua intervenção na transmissão colinérgica, o que faz com que esta enzima seja um potencial alvo terapêutico da DA <sup>[75]</sup>.

Alguns inibidores da BuChE em estudo levaram a um aumento dos níveis extracelulares da Ach e melhoraram as capacidades cognitivas, denunciando também propriedades que inibem a agregação da P $\beta$ A <sup>[75]</sup>.

Apesar do inegável progresso no desenvolvimento dos inibidores da BuChE, ainda existem algumas preocupações no que concerne aos efeitos adversos decorrentes da inibição periférica da Ach <sup>[75]</sup>. Por outro lado, acredita-se que os inibidores seletivos para a AChase que não tenham atividade sobre a BuChE possam não constituir terapêuticas modificadoras da doença <sup>[75]</sup>. Um estudo aprofundado da estrutura da BuChE e do seu papel na DA poderá esclarecer a viabilidade da sua aplicação como novo alvo terapêutico <sup>[75]</sup>.

### **6.3.9. Terapias multialvo**

A DA trata-se de uma doença multifatorial que envolve variadas alterações, como o declínio dos níveis da Ach, o aumento da agregação, deposição e formação da P $\beta$ A, a ativação da BACE-1, a hiperfosforilação da PT e conseqüente formação do EN, o stress

oxidativo, entre outros <sup>[75]</sup>. Estes alvos diversos podem ser visados simultaneamente usando uma única molécula, o que pode constituir uma forma de “atacar” a morte neuronal e não apenas fornecer um alívio sintomático <sup>[75]</sup>.

Estas moléculas multialvo podem combinar numa só entidade química a atividade sobre vários alvos, ou seja, o composto pode ter a capacidade simultânea de se ligar, por exemplo, à BACE-1 e à AChase inibindo-as e ainda evitar a agregação da P $\beta$ A <sup>[75]</sup>. Das terapêuticas usadas na DA sabe-se que algumas delas exibem potencial para poder atuar sobre múltiplos alvos <sup>[75]</sup>.

Foram também explorados compostos que têm capacidade de inibir a AChase e potencial antioxidante, como por exemplo a berberina, a melatonina e o ácido ferrúlico <sup>[75]</sup>. Estes compostos não mostraram só atividade antioxidante e inibitória da AChase, mas também exibiram inibição da agregação da P $\beta$ A <sup>[75]</sup>.

Recentemente o farmacóforo da tacrina tem sido amplamente estudado com o intuito de avaliar a possibilidade da sua conjugação com agentes antioxidantes para originar uma molécula que consiga atuar em vários alvos <sup>[75]</sup>. A técnica de hibridização de moléculas já conhecidas, como por exemplo a galantamina e a memantina, com a obtenção de único composto detentor da simultaneidade das suas propriedades terapêuticas também poderá constituir uma estratégia válida <sup>[75]</sup>.

Existem várias moléculas multialvo que chegaram às fases clínicas sem ter sido comprovada a performance terapêutica esperada; o Ladostigil é um exemplo dessas moléculas, tendo falhado em ensaios clínicos de fase III <sup>[75]</sup>.

## 6. Discussão

Atualmente já existe uma panóplia de novas estratégias terapêuticas que estão a ser estudadas como potenciais curas ou retardantes da DA. Porém, o pouco conhecimento do mecanismo de evolução da doença e também do mecanismo de ação destas novas moléculas faz com que muitas das novas estratégias falhem nos ensaios clínicos.

Sendo assim, e à luz de todos os ensaios clínicos que já foram feitos, verifica-se que são necessários mais estudos sobre as terapêuticas emergentes para a DA, uma vez que estas constituem a única hipótese de ser encontrada uma molécula que tenha propriedades modificadoras da doença. Neste momento, a maioria das novas terapêuticas foca-se apenas num alvo terapêutico. Todavia, neste tipo de doença, cujo mecanismo não está ainda totalmente esclarecido, pensa-se ser importante mudar esta mentalidade e deve-se cada vez mais passar a adotar estratégias que “ataquem” vários alvos, uma vez que todas as terapêuticas com um alvo único falharam e a DA é uma doença multifatorial.

Para além disso, pensa-se que terapêuticas que têm como alvo a P $\beta$ A possam vir a ser as mais efetivas, porque a formação e agregação da P $\beta$ A são os primeiros fenómenos a intercorrer na DA. No entanto, estas terapêuticas devem ser preventivas, ou seja, devem ser administradas em indivíduos que apresentem características mais predisponentes para o desenvolvimento da DA e desta forma poder-se-ia retardar o aparecimento da doença ou até mesmo impedir a sua manifestação. Mas é igualmente sabido que as terapêuticas que têm como alvo a P $\beta$ A têm também inúmeros efeitos adversos, pelo que se teria de proceder a uma otimização das moléculas de forma a minimizar a toxicidade, garantindo a sua eficácia.

Para além desta terapêutica, tal como referido anteriormente, as terapêuticas multialvos podem também vir a ser consideradas como as mais promissoras porque exercem a sua atividade em vários alvos e vão ter uma maior capacidade de modificar a doença, porém estas terapêuticas ainda têm um longo caminho pela frente.

De todas as novas terapêuticas em estudo, acredita-se que muitas delas possam um dia vir a ser terapias para a DA, sendo que para isso são necessários mais anos de descobertas, otimizações de moléculas e de muitos mais ensaios para que se possa compreender melhor os processos fisiológicos subjacentes à patologia e responsáveis pela resposta à terapêutica.

Ao longo dos anos vai-se tendo também uma ideia cada vez mais clara da fisiologia da DA, o que facilitará tanto a otimização destas novas terapias como a criação de novas opções terapêuticas que ainda desconhecemos, levando a uma redução da taxa de insucesso dos ensaios clínicos.

Para finalizar, crê-se que o futuro nos reserva muitas surpresas no que toca ao tratamento da DA, e que mais cedo do que se julga irá ser desenvolvida uma cura para esta doença que afeta milhares de pessoas em todo o mundo.

## 7. Conclusão

A complexidade do cérebro e da DA representa um enorme desafio para os investigadores encontrarem novas possíveis terapêuticas [75]. Ainda existe uma ampla diferença entre as hipóteses propostas e o seu impacto no tratamento da DA, sendo que isto constitui um entrave significativo ao desenvolvimento de novos fármacos, na medida em que se desconhece a totalidade dos processos fisiopatológicos da doença [75].

Nos últimos anos, vários foram os ensaios clínicos realizados, mas que não tiveram qualquer sucesso, sendo que a principal razão para este falhanço é a incapacidade de conseguir reproduzir exatamente em modelos animais aquilo que se processa num cérebro humano afetado pela DA [75]. Porém é urgente o desenvolvimento de fármacos modificadores da doença, uma vez que os existentes apenas promovem um alívio sintomático e retardam um pouco a progressão da doença, mas não conseguem bloquear a sua progressão [48]. Neste contexto, o *pipeline* de fármacos desenvolvidos para o tratamento da DA é bastante pequeno, e a taxa de sucesso dos ensaios clínicos é reduzida, daí a urgência em aumentar o número de moléculas que possam constituir uma via potencial de tratamento para os doentes com DA [100].

Quando se encontrar uma terapêutica modificadora da doença que seja eficaz, é essencial assegurar que este tratamento seja acessível e que possa ser administrado a todos os doentes com DA, desde aqueles que expressam a forma mais ligeira até aos que já se encontram em estados muito avançados de neurodegenerescência [9]. Tendo em vista a implementação de uma prevenção, é necessário primeiramente conseguir identificar quais os indivíduos com maior risco de desenvolver a patologia, sendo que para isso tem de se apostar em mais testes capazes de detetar possíveis biomarcadores da doença [9].

## 8. Referências bibliográficas

1. Ulep, M. G., Saraon, S. K., & McLea, (2018). Alzheimer Disease. *The Journal for Nurse Practitioners*, 14(3), 129–135.
2. Organisation for Economic Co-Operation and Development/EU (2018), Health at a Glance: Europe 2018: State of Health in the EU Cycle, OECD Publishing, Paris.
3. Organisation for Economic Co-Operation and Development /EU (2018), Care Needed: Improving the Lives of People with Dementia, OECD Health Policy Studies, OECD Publishing, Paris.
4. Scheltens, P., *et al.* (2016). Alzheimer's disease. *The Lancet*, 388(10043), 505–517.
5. Hickman, R. A., Faustin, A., & Wisniewski, T. (2016). Alzheimer Disease and Its Growing Epidemic: Risk Factors, Biomarkers, and the Urgent Need for Therapeutics. *Neurologic Clinics*, 34(4), 941–953.
6. Kumar, A., Singh, A., & Ekavali. (2015). A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacological Reports*, 67(2), 195–203.
7. Kumar, K., *et al.* (2018). Recent advances in the neurobiology and neuropharmacology of Alzheimer's disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 98, 297–307.
8. Godyń, J., *et al.* (2016). Therapeutic strategies for Alzheimer's disease in clinical trials. *Pharmacological Reports*, 68(1), 127–138.
9. Lane, C. A., Hardy, J., & Schott, J. M. (2018). Alzheimer's disease. *European Journal of Neurology*, 25(1), 59–70.
10. Coman, H., & Nemeş, B. (2017). New Therapeutic Targets in Alzheimer's Disease. *International Journal of Gerontology*, 11(1), 2–6.
11. World Health Organization, Global Health Estimates 2016: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016; Geneva, 2018. Consultado a 15 de abril. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
12. Instituto Nacional de Estatística, Causas de morte 2017, Lisboa, 2019. Consultado a 15 de abril de 2019. Disponível em: [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_publicacoes&PUBLICACOESpub\\_boui=358633033&PUBLICACOES\\_modo=2](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=358633033&PUBLICACOES_modo=2)
13. Eratne, D., *et al* (2018). Alzheimer's disease: clinical update on epidemiology, pathophysiology and diagnosis. *Australasian Psychiatry : Bulletin of Royal*

*Australian and New Zealand College of Psychiatrists*, 26(4), 347–357.

14. 2019 Alzheimer's disease facts and figures. (2019). *Alzheimer's & Dementia*, 15(3), 321–387.
15. Robinson, M., Lee, B. Y., & Hane, F. T. (2017). Recent Progress in Alzheimer's Disease Research, Part 2: Genetics and Epidemiology. *Journal of Alzheimer's Disease*, 57(2), 317–330.
16. Dharmarajan, T. S., & Gunturu, S. G. (2009). Alzheimer's disease: a healthcare burden of epidemic proportion. *American Health & Drug Benefits*, 2(1), 39–47.
17. Guerreiro, R., *et al.* (2013). *TREM2* Variants in Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*, 368(2), 117–127.
18. Jonsson, T., *et al.* (2012). A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature*, 488(7409), 96–99.
19. Jeon, S. Y., *et al.* (2019). Influence of hypertension on brain amyloid deposition and Alzheimer's disease signature neurodegeneration. *Neurobiology of Aging*, 75, 62–70.
20. Takeda, S. (2019). Progression of Alzheimer's disease, tau propagation, and its modifiable risk factors. *Neuroscience Research*, 141, 36–42.
21. Ashby, E. L., & Kehoe, P. G. (2013). Current status of renin–aldosterone angiotensin system-targeting anti-hypertensive drugs as therapeutic options for Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 22(10), 1229–1242.
22. Phillips, M. I., & de Oliveira, E. M. (2008). Brain renin angiotensin in disease. *Journal of Molecular Medicine*, 86(6), 715–722.
23. Stanley, M., Macauley, S. L., & Holtzman, D. M. (2016). Changes in insulin and insulin signaling in Alzheimer's disease: cause or consequence? *Journal of Experimental Medicine*, 213(8), 1375–1385.
24. Felice, F. G. De, & Ferreira, S. T. (2014). Inflammation, Defective Insulin Signaling, and Mitochondrial Dysfunction as Common Molecular Denominators Connecting Type 2 Diabetes to Alzheimer Disease. *Diabetes*, 63(7), 2262–2272.
25. Salas, I. H., & De Strooper, B. (2019). Diabetes and Alzheimer's Disease: A Link not as Simple as it Seems. *Neurochemical Research*, 44(6), 1271–1278.
26. Lyra e Silva, N. de M., *et al.* (2019). Understanding the link between insulin resistance and Alzheimer's disease: Insights from animal models. *Experimental Neurology*, 316, 1–11.

27. Mayeux, R., & Stern, Y. (2012). Epidemiology of Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(8).
28. Moser, V. A., & Pike, C. J. (2016). Obesity and sex interact in the regulation of Alzheimer's disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 67, 102–118.
29. Durazzo, T. C., Mattsson, N., & Weiner, M. W. (2014). Smoking and increased Alzheimer's disease risk: A review of potential mechanisms. *Alzheimer's & Dementia*, 10(3), S122–S145.
30. Loera-Valencia, R., *et al.* (2019). Alterations in cholesterol metabolism as a risk factor for developing Alzheimer's disease: Potential novel targets for treatment. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 190, 104–114.
31. Lambert, J.-C., *et al.* Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nature Genetics*, 41(10), 1094–1099.
32. Reitz, C., Brayne, C., & Mayeux, R. (2011). Epidemiology of Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*, 7(3), 137–152.
33. Hill, E., *et al.* (2019). Diet and biomarkers of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Neurobiology of Aging*, 76, 45–52.
34. Lange, K. W., *et al.* (2017). Ketogenic diets and Alzheimer's disease. *Food Science and Human Wellness*, 6(1), 1–9.
35. Brown, B. M., Peiffer, J., & Rainey-Smith, S. R. (2019). Exploring the relationship between physical activity, beta-amyloid and tau: A narrative review. *Ageing Research Reviews*, 50, 9–18.
36. Zvěřová, M. (2019). Clinical aspects of Alzheimer's disease. *Clinical Biochemistry*, 72, 3-6.
37. Kuo, Y.-C., & Rajesh, R. (2017). A critical overview of therapeutic strategy and advancement for Alzheimer's disease treatment. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 77, 92–105.
38. Delrieu, J., *et al.* (2011). Managing Cognitive Dysfunction through the Continuum of Alzheimer's Disease. *CNS Drugs*, 25(3), 213–226.
39. Mendez, M. F. (2017). Early-Onset Alzheimer Disease. *Neurologic Clinics*, 35(2), 263–281.
40. Gao, Y., *et al.* (2019). Mutation profile of APP, PSEN1, and PSEN2 in Chinese familial Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 77, 154–157.
41. Shao, W., Peng, D., & Wang, X. (2017). Genetics of Alzheimer's disease: From pathogenesis to clinical usage. *Journal of Clinical Neuroscience*, 45, 1–

8.

42. Lewis, P. A., *et al.* (2019). Alzheimer's Disease and Dementia. *The Molecular and Clinical Pathology of Neurodegenerative Disease*, Chapter 2, 25–82.
43. Mamelak, M. (2017). Energy and the Alzheimer brain. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 75, 297–313.
44. Naseri, N. N., *et al.* (2019). The complexity of tau in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 705, 183–194.
45. Pini, L., *et al.* (2016). Brain atrophy in Alzheimer's Disease and aging. *Ageing Research Reviews*, 30, 25–48.
46. Keep Memory Alive. (2019). Normal versus Alzheimer's Brain. Consultado a 4 de Agosto de 2019. Disponível em: <https://www.keepmemoryalive.org/brain-science/alzheimers-brain>
47. Barage, S. H., & Sonawane, K. D. (2015). Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. *Neuropeptides*, 52, 1–18.
48. Kurochkin, I. V., Guarnera, E., & Berezovsky, I. N. (2018). Insulin-Degrading Enzyme in the Fight against Alzheimer's Disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, 39(1), 49–58.
49. Muresanu, D. F., *et al.* (2019). Nanowired delivery of cerebrolysin with neprilysin and p-Tau antibodies induces superior neuroprotection in Alzheimer's disease. *Progress in Brain Research*, 245, Chapter 5, 145–200.
50. Folch, J., *et al.* (2018). Review of the advances in treatment for Alzheimer disease: strategies for combating  $\beta$ -amyloid protein. *Neurología (English Edition)*, 33(1), 47–58.
51. Madav, Y., Wairkar, S., & Prabhakar, B. (2019). Recent therapeutic strategies targeting beta amyloid and tauopathies in Alzheimer's disease. *Brain Research Bulletin*, 146, 171–184.
52. Sarkar, S. (2018). Neurofibrillary tangles mediated human neuronal tauopathies: insights from fly models. *Journal of Genetics*, 97(3), 783–793.
53. Du, X., Wang, X., & Geng, M. (2018). Alzheimer's disease hypothesis and related therapies. *Translational Neurodegeneration*, 7(1), 2.
54. Picciotto, M. R., Higley, M. J., & Mineur, Y. S. (2012). Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. *Neuron*, 76(1), 116–129.
55. Martorana, A., Esposito, Z., & Koch, G. (2010). Beyond the Cholinergic Hypothesis: Do Current Drugs Work in Alzheimer's Disease? *CNS*

*Neuroscience & Therapeutics*, 16(4), 235-245.

56. Craig, L. A., Hong, N. S., & McDonald, R. J. (2011). Revisiting the cholinergic hypothesis in the development of Alzheimer's disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 35(6), 1397–1409.
57. Contestabile, A. (2011). The history of the cholinergic hypothesis. *Behavioural Brain Research*, 221(2), 334–340.
58. David B. Hogan. (2009). Practical Approach to the Use of Cholinesterase Inhibitors in Patients with Early Alzheimer's Disease. *Geriatrics and Aging, Volume 12* (Number 4), 202- 207.
59. Wang, R., & Reddy, P. H. (2017). Role of Glutamate and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, 57(4), 1041–1048.
60. Piaceri, I., *et al.* (2012). Mitochondria and Alzheimer's disease. *Journal of the Neurological Sciences*, 322(1–2), 31–34.
61. Wang, X., *et al.* (2014). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1842(8), 1240–1247.
62. Ozben, T., & Ozben, S. (2019). Neuro-inflammation and anti-inflammatory treatment options for Alzheimer's disease. *Clinical Biochemistry*.
63. Graham, W. V., Bonito-Oliva, A., & Sakmar, T. P. (2017). Update on Alzheimer's Disease Therapy and Prevention Strategies. *Annual Review of Medicine*, 68(1), 413–430.
64. Farlow, M. R. (2001). Pharmacokinetic profiles of current therapies for Alzheimer's disease: implications for switching to galantamine. *Clinical Therapeutics*, 23, Supplement 1, A13–A24.
65. Wu, W.-Y., *et al.* (2017). Novel multitarget-directed tacrine derivatives as potential candidates for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1), 572–587.
66. Francis, P. T., *et al.* (1999). The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 66(2), 137–147.
67. Li, Q., *et al.* Donepezil-based multi-functional cholinesterase inhibitors for treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 158, 463–477.
68. Shah, S., & Reichman, W. E. (2006). Treatment of Alzheimer's disease across the spectrum of severity. *Clinical Interventions in Aging*, 1(2), 131–142.

69. Ehret, M. J., & Chamberlin, K. W. (2015). Current Practices in the Treatment of Alzheimer Disease: Where is the Evidence After the Phase III Trials? *Clinical Therapeutics*, *37*(8), 1604–1616.
70. Pirttila, T., *et al.* (2004). Long-term efficacy and safety of galantamine in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease: multicenter trial. *European Journal of Neurology*, *11*(11), 734–741.
71. Fish, P. V., *et al.* (2019). New approaches for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *29*(2), 125–133.
72. Finley, R. (1995). Tacrine for Alzheimer's Disease: Therapeutic Considerations. *Journal of Pharmacy Practice*, *8*(5), 217–227.
73. Makino, M., *et al.* (2019). Memantine ameliorates learning and memory disturbance and the behavioral and psychological symptoms of dementia in thiamine-deficient mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *183*, 6–13.
74. Friedlander, A. H., *et al.* (2006). Alzheimer's disease: psychopathology, medical management and dental implications. *Journal of the American Dental Association (1939)*, *137*(9), 1240–1251.
75. Sharma, P., *et al.* (2019). Comprehensive review of mechanisms of pathogenesis involved in Alzheimer's disease and potential therapeutic strategies. *Progress in Neurobiology*, *174*, 53–89.
76. Coimbra, J. R. M., *et al.* (2018). Highlights in BACE1 Inhibitors for Alzheimer's Disease Treatment. *Frontiers in Chemistry*, *6*, 178.
77. ALZFORUM. (2019). Therapeutics: Elenbecestat. Consultado a 20 de agosto de 2019. Disponível em: <https://www.alzforum.org/therapeutics/elenbecestat>
78. BACE Inhibitors: Postmortem on One, Live Updates on Two. (2019). *International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases*. Consultado a 20 de agosto de 2019. Disponível em: <https://www.alzforum.org/news/conference-coverage/international-conference-alzheimers-and-parkinsons-diseases-2019>
79. Neumann, U., *et al.* (2018). The BACE-1 inhibitor CNP520 for prevention trials in Alzheimer's disease. *EMBO Molecular Medicine*, *10*(11).
80. Nagase, H., & Nakayama, K. (2018). Present and Future Therapies for Alzheimer's Disease. In *Immunoregulatory Aspects of Immunotherapy*, Chapter 8.
81. Kumar, D., *et al.* (2018). Secretase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: Long road ahead. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *148*, Chapter 8, 436–452.

82. Xia, W. (2019).  $\gamma$ -Secretase and its modulators: Twenty years and beyond. *Neuroscience Letters*, 701, 162–169.
83. Hung, S.-Y., & Fu, W.-M. (2017). Drug candidates in clinical trials for Alzheimer's disease. *Journal of Biomedical Science*, 24(1), 47.
84. Piton, M., *et al.* (2018). Alzheimer's Disease: Advances in Drug Development. *Journal of Alzheimer's Disease*, 65(1), 3–13.
85. Lannfelt, L., Relkin, N. R., & Siemers, E. R. (2014). Amyloid- $\beta$ -directed immunotherapy for Alzheimer's disease. *Journal of Internal Medicine*, 275(3), 284–295.
86. ALZFORUM. (2019). Therapeutics: Aducanumab. Consultado a 23 de agosto de 2019. Disponível em: <https://www.alzforum.org/therapeutics/aducanumab>
87. ALZFORUM. (2019). Therapeutics: Crenezumab. Consultado a 23 de agosto de 2019. Disponível em: <https://www.alzforum.org/therapeutics/crenezumab>
88. Hampel, H., *et al.* (2018). Precision pharmacology for Alzheimer's disease. *Pharmacological Research*, 130, 331–365.
89. Shahpasand, K., *et al.* (2018). Tau immunotherapy: Hopes and hindrances. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 14(2), 277–284.
90. Pedersen, J. T., & Sigurdsson, E. M. (2015). Tau immunotherapy for Alzheimer's disease. *Trends in Molecular Medicine*, 21(6), 394–402.
91. Congdon, E. E., & Sigurdsson, E. M. (2018). Tau-targeting therapies for Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*, 14(7), 399–415.
92. Novak, P., *et al.* (2019). AADvac1, an Active Immunotherapy for Alzheimer's Disease and Non Alzheimer Tauopathies: An Overview of Preclinical and Clinical Development. *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, 6(1), 63–69.
93. Liu, H.-C., Leu, S.-J., & Chuang, D.-M. (2012). Roles of Glycogen Synthase Kinase-3 in Alzheimer's Disease: From Pathology to Treatment Target. *Journal of Experimental & Clinical Medicine*, 4(3), 135–139.
94. NIH: U. S. National Library of Medicine. (2019). TRx0237 - List Results - ClinicalTrials.gov. Consultado a 25 de agosto de 2019. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?term=TRx0237&Search=Search>
95. López-Camacho, P. Y., *et al.* (2018). Research and therapeutics in Alzheimer's disease based on amyloid beta and tau. *Archivos de Neurociencias*, 22(2), 72–88.
96. Farina, N., *et al.* (2012). Vitamin E for Alzheimer's dementia and mild cognitive impairment. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*,

2012(11), CD002854.

97. ALZFORUM. (2019). Therapeutics: Bexarotene. Consultado a 26 de agosto de 2019. Disponível em: <https://www.alzforum.org/therapeutics/bexarotene>
98. ALZFORUM. (2019). Therapeutics: T3D-959. Consultado a 26 de agosto de 2019. Disponível em: <https://www.alzforum.org/therapeutics/t3d-959>
99. ALZFORUM. (2019). Therapeutics: Clioquinol. Consultado a 26 e agosto de 2019. Disponível em: <https://www.alzforum.org/therapeutics/cliouinol>
100. Cummings, J. L., Morstorf, T., & Zhong, K. (2014). Alzheimer's disease drug-development pipeline: few candidates, frequent failures. *Alzheimer's Research & Therapy*, 6(4), 37.

