



**UAAlg**

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

**Universidade do Algarve**

Faculdade de Ciências e Tecnologia

# **Abordagem Terapêutica na Doença de Alzheimer**

Dissertação para obtenção do grau de mestre em  
Ciências Farmacêuticas

**Bárbara Martins Sousa**

Trabalho efetuado sob a orientação da Professora Doutora Inês Araújo e sob  
coorientação da Professora Maria de Lurdes Cristiano

**Faro, Setembro de 2017**

# Abordagem Terapêutica da Doença de Alzheimer

## Declaração de autoria de trabalho

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

---

(Bárbara Martins Sousa)

Copyright© 2017 Bárbara Martins Sousa

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.

## Índice

Agradecimentos .....	3
Resumo.....	6
Abstract .....	8
1. Introdução .....	10
1.1. Epidemiologia.....	10
1.2. Evolução da doença.....	11
2. Objetivos .....	14
3. Metodologia .....	15
4. Fisiopatologia da doença de Alzheimer .....	16
4.1. Formação do péptido beta amiloide e placas senis .....	16
4.2. Desregulação da fosforilação da tau e formação de tranças neurofibrilares .....	19
4.3. ApoE .....	22
5. Profilaxia da Doença de Alzheimer .....	25
6. Terapêutica .....	27
6.1. Fármacos colinérgicos .....	28
6.1.1. Donepezil.....	29
6.1.2. Rivastigmina .....	30
6.2. Inibidores dos recetores de glutamato .....	31
6.2.1. Memantina .....	31
7. Terapia genética.....	35
7.1. Ação do gene PGC-1 $\alpha$ na redução das placas senis na AD.....	35
7.2. Ação do gene CD33 nas células de microglia e o seu efeito na AD.....	38
8. Terapia celular.....	40
8.1. Utilização de células estaminais em laboratório para encontrar o fármaco mais específico.....	41
8.2. Transplante de células estaminais neuronais diretamente para os tecidos lesados do doente .....	42
9. Imunização ativa da doença de Alzheimer com vacinas .....	44
10. Resumo Terapêutica.....	46
11. Discussão .....	47
12. Conclusão .....	53
13. Bibliografia .....	55

*“A ciência, meu rapaz, é feita de erros, mas de erros benéficos, já que conduzem pouco a pouco  
à verdade.”*

Júlio Verne em: *As Viagens ao centro da terra*

*“Algo só é impossível até que alguém duvide e resolva provar o contrário.”*

Albert Einstein

*“Põe quanto és no mínimo que fazes.”*

Ricardo Reis

## Agradecimentos

Finda a minha Formação académica é com enorme gosto que agradeço a todos os que me ajudaram e estiveram presentes, quer direta como indiretamente, nesta longa jornada de cinco anos no Mestrado Integrado de Ciências Farmacêuticas.

Neste espaço limitado quero fazer valer cada agradecimento da forma como considero justa e merecedora.

Em primeiro quero agradecer à minha mãe. Obrigada por me apoiares em todas minhas decisões e me incentivares a ir sempre mais além. Agradeço-te com todo o meu amor, a força com que me criaste e me fizeste tornar nesta mulher determinada, segura e trabalhadora. Agradeço-te por acreditares sempre em mim. Agradeço-te por estares sempre presente. Agradeço-te não só por seres minha mãe, mas por dares significado à palavra MÃE em todo o seu esplendor.

Agradeço às minhas irmãs, Maria, Marta, Inês e Madalena, e ao meu irmão Marco, por estarem sempre por mim e para mim.

À minha avó Glória agradeço por ser a minha segunda mãe. Obrigada por todo o apoio, por todo o cuidado e amor que me deste.

Ao meu avô Diamantino e ao meu avô Valdir agradeço por serem os melhores avôs do mundo. Agradeço por me fazerem rir nos dias mais difíceis e por nunca deixarem de estar presentes na minha vida, dia após dia.

À minha avó Manuela que infelizmente já não se encontra connosco, agradeço por me ensinar a ajudar os outros, por cuidar de mim, por me ter incentivado sempre a estudar e a querer ser a melhor. Obrigada por me dares força dia após dia, mesmo sem estares por perto.

Ao meu namorado e melhor amigo, Miguel, agradeço por me ajudar a nunca desistir daquilo que quero e acredito. Agradeço por estar sempre lá para mim. Obrigada por me mostrares que conquistar os nossos sonhos só depende de nós e do nosso trabalho.

Agradeço à minha melhor amiga, Rita, por mesmo longe, ter um papel essencial no meu percurso académico. Agradeço por ser a pessoa que está sempre presente para tudo.

Às minhas colegas, irmãs, melhores amigas de curso, Joana, Bárbara, Sarah e Diana, agradeço por ter tido a sorte de o meu caminho se cruzar com o vosso. Estes cinco anos não custaram nada a passar ao vosso lado. Obrigada por estes maravilhosos anos cheios de histórias para um dia mais tarde recordar. Obrigada pela amizade.

À Professora Doutora Inês Araújo agradeço a oportunidade que me deu ao poder trabalhar o tema da minha monografia com alguém tão entendida no assunto. Obrigada por me fazer apaixonar ainda mais por neurociência e me ter proporcionado todas condições para conseguir concluir a minha dissertação.

À Professora Doutora Maria de Lurdes Cristiano agradeço a disponibilidade e prontidão para ajudar os alunos. Obrigada por me ter ajudado em mais uma etapa do curso.

À Professora Doutora Isabel Ramalinho, professora e coordenadora de estágios, agradeço por me ter proporcionado o estágio em dois locais maravilhosos que me fizeram crescer e tornar-me melhor farmacêutica.

Aos meus restantes amigos agradeço do fundo do coração por cada um à sua maneira ter contruído para o fim de mais uma etapa da minha vida e início de uma nova. Obrigada pelo apoio e força durante estes largos 5 anos.

À minha restante família, agradeço com todo o amor, por estarem presentes, por acreditarem em mim e por todo o orgulho que demonstram em ver-me atingir os meus objetivos e conquistar os meus sonhos.

Dedico este trabalho à minha mãe.

Por todo o amor que me foi dado. Por tudo!

## Resumo

A doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa progressiva e fatal que conduz à demência e que afeta preferencialmente a população idosa<sup>(1)</sup>. Pode-se considerar esta doença como a grande epidemia deste século, estimando-se um aumento substancial de casos devido ao envelhecimento da população.

Clinicamente, esta doença manifesta-se com um declínio gradual da memória e de outras funções cognitivas e neurológicas, devido à degeneração e atrofia cerebral resultante da acumulação extracelular de placas do péptido beta amilóide e de tranças neurofibrilares, constituídos por agregados de Tau hiperfosforilada<sup>(2)</sup>. No entanto, a interação entre estes dois elementos patológicos ainda não é completamente conhecida.

De acordo com a literatura, o desenvolvimento da doença de Alzheimer está associado a disfunções nas vias de sinalização, tais como: agregação e deposição de beta amilóide, hiperfosforilação da proteína tau, disfunção neurovascular, processos inflamatórios, stress oxidativo, disfunção mitocondrial<sup>(3)</sup>. Todavia, não são completamente conhecidos os mecanismos responsáveis pelas disfunções que levam ao depósito de placas beta amiloides e ao desenvolvimento das tranças neurofibrilares e, conseqüentemente, à neurodegenerescência e alterações cognitivas características da doença de Alzheimer. Existem várias hipóteses que ocupam neste momento a comunidade científica e diversos aspetos que podem estar na base do aparecimento da doença, mas o conhecimento disponível sobre este assunto ainda é insuficiente, o que limita bastante o desenvolvimento de soluções terapêuticas eficazes. Assim, surgem dois grandes problemas que comprometem o controlo da doença de Alzheimer: a inexistência de estratégias terapêuticas para travar a progressão da doença nos pacientes já diagnosticados e a inexistência de estratégias preventivas para impedir o seu desenvolvimento em populações suscetíveis.

Conhecendo esta problemática e tendo em conta a pertinência e a vontade de aprofundar o tema, o objetivo desta monografia passa pela Revisão Bibliográfica das abordagens terapêuticas disponíveis para aliviar os sintomas da Doença de Alzheimer e dos estudos em curso direcionados para o desenvolvimento de terapêuticas específicas, definindo novas e possíveis abordagens tendo em conta os potenciais alvos descritos pela literatura.

## Abstract

Alzheimer's disease is a progressive, fatal neurodegenerative disease that leads to dementia and that affects mostly the elderly population<sup>(1)</sup>. One can consider this disease as the great epidemics of this century, with a substantial increase of cases estimated, due to global aging of the world population.

Clinically, the disease manifests with a gradual decline of memory and other cognitive and neurological functions, due to the degeneration and brain atrophy, concomitant with the extracellular accumulation of amyloid beta plates and also neurofibrillary tangles, these consisting of aggregates of hyperphosphorylated tau protein<sup>(2)</sup>. However, the relationship between these two pathological elements is not yet fully understood.

According to the literature, the development of Alzheimer's disease is associated with signaling dysfunction, that eventually leads to aggregation and deposition of beta amyloid protein and hiperphosforilation of the tau protein, neurovascular dysfunction, inflammation, oxidative stress, and even mitochondrial dysfunction<sup>(3)</sup>. However, the mechanisms behind these processes, including those leading to deposits of amyloid beta sheets and neurofibrillary tangles, the evidence for positive diagnosis of Alzheimer's disease, are still elusive. There are several hypotheses that currently occupy the scientific community and several aspects that can form the basis of the appearance of the disease, but the available knowledge on this subject is still insufficient, which limits the development of effective therapeutic solutions. So, there are two major problems that compromise the control of Alzheimer's disease: the lack of therapeutic strategies for halting the progression of the disease in patients already diagnosed and the lack of strategies to prevent the development of Alzheimer's disease in susceptible populations.

Knowing this issue and considering the relevance and willingness to deepen the theme, the aim of this monograph is to review the available therapeutic approaches to relieve the symptoms of Alzheimer's disease and the ongoing studies directed towards specific therapeutic

development, defining new approaches and taking into account the potential targets described by the literature.

## 1. Introdução

A doença de Alzheimer (AD, do inglês *Alzheimer's Disease*) é a patologia mais prevalente no grupo de doenças que provocam demência <sup>(4)</sup>. A demência é um síndrome de natureza crónica e progressiva, causada por uma panóplia de patologias cerebrais que afetam desde a memória ao pensamento, mas também o comportamento e a capacidade de realizar atividades diárias <sup>(5)</sup>.

Clinicamente, a demência pode manifestar-se por alterações da memória, do pensamento, da linguagem e da orientação. Estas alterações manifestam-se caracteristicamente em dois períodos temporais.

### 1.1. Epidemiologia

Num estudo de 2013, Chan et al. refere que, nesse ano, 35,6 milhões de pessoas viviam com demência, a nível mundial, e estimou que este valor duplicará até 2030 e triplicará até 2050<sup>(4)</sup>. Os dados estimados apresentam valores drásticos que se devem ao facto de a população do mundo estar cada vez mais envelhecida, graças às melhorias nos sistemas de saúde a nível mundial, que contribuem fortemente para o aumento da esperança média de vida e favorecem vidas mais saudáveis, conduzindo ao aparecimento de doenças crónicas associadas ao envelhecimento<sup>(5)</sup>. Embora afete as pessoas mais envelhecidas, é importante ressaltar que a demência não é uma parte natural ou normal do envelhecimento<sup>(5)</sup>, mas sim uma patologia neurodegenerativa que se acentua com a idade<sup>(6)</sup>.

A esperança média de vida à nascença é um dos indicadores epidemiológicos mais relevantes para caracterizar o envelhecimento da população. No intervalo de 2011 a 2013, a esperança média de vida à nascença da população residente em Portugal era de 80 anos, mais especificamente, 82,79 anos para as mulheres e 76,91 anos para os homens. Estes valores demonstraram aumentos de aproximadamente 3 anos, comparativamente com a década anterior<sup>(4)</sup>.

Um estudo recente realizado em Portugal, refere que o número de portugueses com mais de 60 anos e com demência foi de 160.287. Representando a AD 50 a 70% dos casos, os autores consideram que em 2015 existiam entre 80.144 e 112.201 doentes com este diagnóstico<sup>(4)</sup>.

As previsões futuras mostram um aumento progressivo desta patologia. Tendo em conta que Portugal é um dos países mais envelhecidos da Europa e do Mundo, dados estatísticos apontam para que, em 2060, a prevalência de demência no nosso país seja de 135.000 pacientes, dos quais 67 a 90.000 tenham AD<sup>(7)</sup>.

É assim de salientar a importância do reconhecimento da demência do ponto de vista epidemiológico no nosso país para que desta forma se definam estratégias ao nível das instituições de apoio e ao nível de tratamento de doentes com este tipo de demência<sup>(4)</sup>.

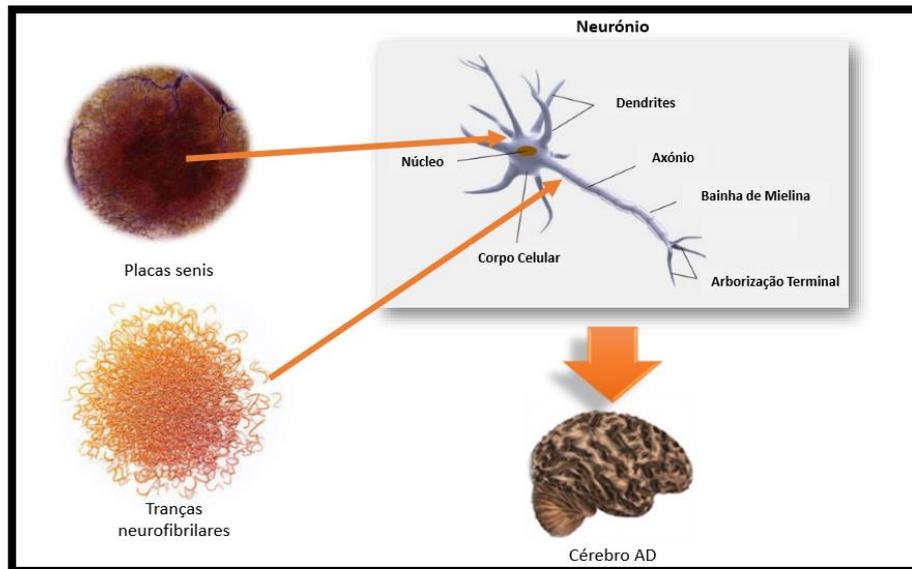
## 1.2. Evolução da doença

As alterações precoces são graduais e geralmente subtis, reconhecidas muitas vezes apenas pelos elementos da família, e manifestam-se por períodos confusionais, dificuldades com a linguagem, dificuldades de concentração e cálculo, problemas com tarefas mais complexas, como por exemplo o pagamento de contas, ou dificuldades de orientação, podendo o doente perder-se num local familiar<sup>(8)</sup>.

As alterações tardias revelam-se à medida que a doença progride e a capacidade de reflexão e pensamento do doente declina. Nesta fase, são típicas as alterações comportamentais e de personalidade. Outras manifestações tardias são o aumento dos sentimentos de raiva e hostilidade, alucinações, delírios, desorientação, bem como a necessidade de ajuda com tarefas básicas associadas à manutenção da vida, da higiene e dos hábitos sociais<sup>(8)</sup>.

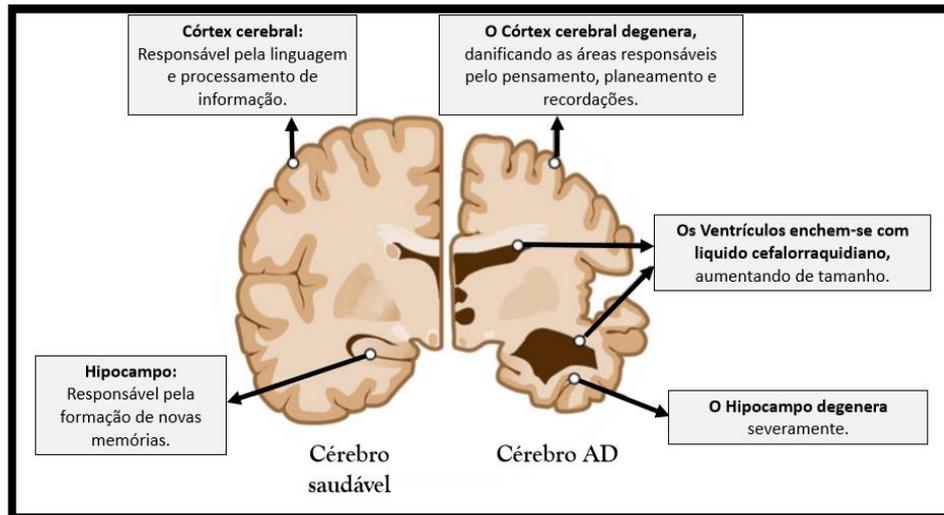
A tipologia e variedade dos sintomas, as funções que se alteram e a velocidade de progressão da sintomatologia podem variar muito de doente para doente<sup>(8)</sup>.

A AD é descrita clinicamente como um declínio gradual da memória e de outras funções cognitivas e neuropatológicas devido a atrofia cerebral resultante da acumulação extracelular de placas do péptido beta amiloide (placas senis) e de tranças neurofibrilares constituídas pela proteína Tau <sup>(2)</sup> hiperfosforilada, como é visível na figura 1.

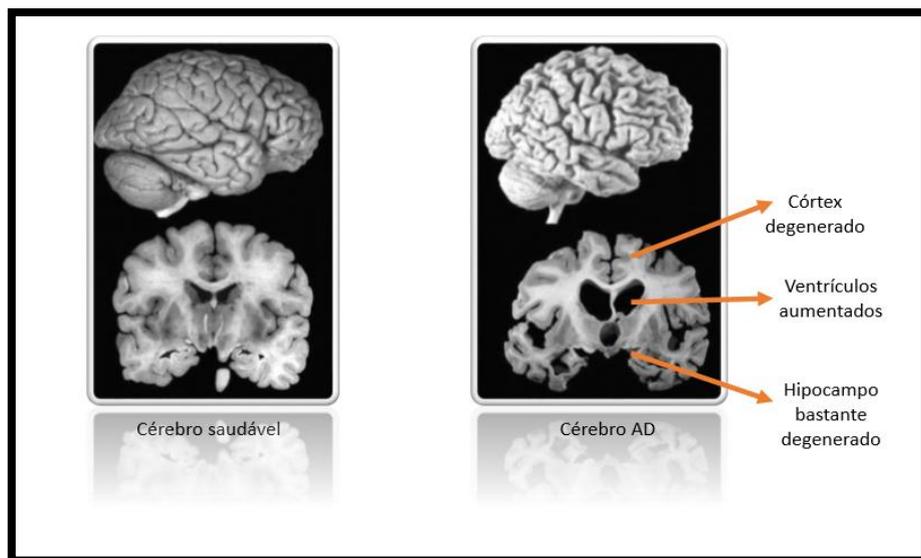


**Figura 1:** Deposição de placas beta senis e tranças neurofibrilares. A figura representa as duas principais evidências patológicas associadas à doença de Alzheimer, nomeadamente as placas senis e as tranças neurofibrilares resultantes da hiperfosforilação da proteína Tau.

O cérebro dos indivíduos com AD degenera e o seu volume diminui, na globalidade (Figura 2), devido à redução de volume do córtex, o que conduz à perda das suas funções normais, comprometendo áreas responsáveis pela memória e outras atividades intelectuais. O processo mais severo ocorre quando o hipocampo, área do sistema límbico importante para formação de novas memórias, sofre degenerescência <sup>(6)</sup> (Figura 2 e Figura 3).



**Figura 2:** Diferenças principais entre um cérebro saudável e um cérebro com Alzheimer. O cérebro AD apresenta o córtex degenerado, os ventrículos aumentados e o hipocampo encolhido, afetando, respetivamente, a linguagem e processamento de informação, e a formação de novas memórias.



**Figura 3:** Representação das 3 alterações morfológicas mais significativas no cérebro AD: degeneração do córtex; aumento dos ventrículos e degeneração do hipocampo.

Adaptado de <https://www.portaldomedico.com/noticia/leia/1ee2ca8b-1cee-4d29-b8c1-bf330da847b1/anatomia-do-cerebro>

## 2. Objetivos

Apesar dos diversos estudos, realizados e em curso, sobre a AD, com o objetivo de se encontrar soluções para a prevenção e cura da doença, as terapêuticas disponíveis apenas atuam ao nível do alívio dos sintomas. É por isso premente incrementar a investigação para um melhor conhecimento dos mecanismos da doença, por forma a identificar os alvos preferenciais que possam suportar o desenvolvimento de fármacos eficazes, seguros e acessíveis aos doentes afetados.

Esta monografia inclui, uma revisão bibliográfica sobre a Abordagem Terapêutica na AD e tem como objetivos principais:

- ✦ Resumir o conhecimento disponível sobre a fisiopatologia da AD;
- ✦ Identificar os alvos terapêuticos da AD até agora considerados;
- ✦ Identificar as estratégias de prevenção da AD através de ações não farmacológicas;
- ✦ Identificar os principais fármacos de 1ª linha, e como atuam na AD;
- ✦ Apresentar novas abordagens terapêuticas, resultantes de estudos presentemente em fase de ensaios clínicos.

### 3. Metodologia

Na presente Revisão Bibliográfica, consideraram-se artigos entre 2011 e 2017 (considerou-se apenas um artigo referente a 2010) por se considerar que contêm informação mais recente sobre doença de Alzheimer, pelo facto de as áreas da neurociência e da farmacologia estarem em constante mudança e desenvolvimento. No entanto, a pesquisa inicial remeteu a artigos cuja data de publicação é inferior à data definida nos critérios de pesquisa inicial.

As figuras apresentadas ao longo do trabalho visam explicar de uma forma mais clara o texto que lhes antecede e foram criadas pela autora. No caso em que as figuras são baseadas em figuras de artigos, estas apresentam-se identificadas pela referente fonte bibliográfica.

Na pesquisa e investigação do tema utilizaram-se as palavras-chave apresentadas na tabela 1, essenciais à escrita desta Revisão Bibliográfica.

**Tabela 1:** Palavras-chave utilizadas na pesquisa e investigação do tema Abordagem Terapêutica da Doença de Alzheimer

<b>Palavras-Chave</b>	
<i>Doença de Alzheimer</i>	<i>Fármacos 1ª linha</i>
<i>Doença neurológica</i>	<i>Donepezil</i>
<i>Idosos</i>	<i>Rivastigmina</i>
<i>Cérebro</i>	<i>Memantina</i>
<i>Atrofia cerebral</i>	<i>Acetilcolinesterase</i>
<i>Memória</i>	<i>Glutamato</i>
<i>Declínio Cognitivo</i>	<i>Células Estaminais</i>
<i>Vias de Sinalização</i>	<i>Cultura de células</i>
<i>Beta-amilóide</i>	<i>Terapia Génica</i>
<i>Placas Beta-amiloide</i>	<i>Transplante</i>
<i>APP</i>	<i>Anticorpo</i>
<i>Proteína Tau</i>	<i>Anti-Beta amiloide</i>
<i>Hiperfosforilação Tau</i>	<i>Vacinas</i>
<i>Tranças neurofibrilares</i>	<i>Abordagem Terapêutica</i>
<i>Gene ApoE</i>	<i>Alvos Terapêuticos</i>
<i>Profilaxia</i>	

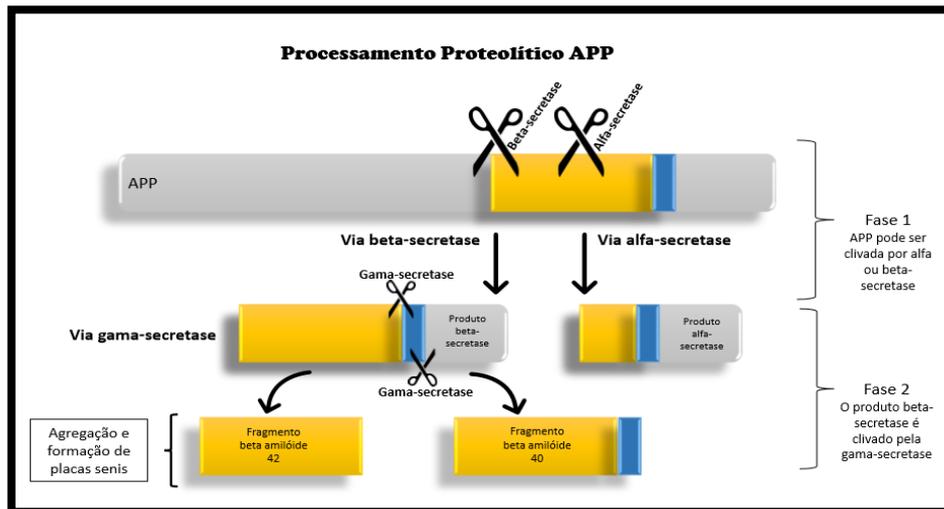
## 4. Fisiopatologia da doença de Alzheimer

Na neuropatologia da AD existem dois mecanismos de grande foco: a) aumento da produção do péptido beta amiloide, que se acumula e tende a formar placas senis<sup>(9)</sup>; b) hiperfosforilação da proteína tau, que afeta a estabilização dos microtúbulos. Desta forma, a organização do citoesqueleto axonal é perturbada e os filamentos da proteína tau defeituosos reúnem-se para formar agregados no neurónio<sup>(10)</sup>. Esta acumulação anormal cria tranças neurofibrilares, que podem conduzir também à morte neuronal<sup>(9)</sup>.

### 4.1. Formação do péptido beta amiloide e placas senis

Como se pode observar na figura 4, a Proteína Precursora da Amilóide (APP) pode ser clivada por duas vias, a via alfa-secretase e a via beta-secretase. Na via alfa-secretase há clivagem da APP em alfa-amilóide devido à ação da enzima alfa-secretase. A clivagem da APP pela via da beta-secretase, é mediada por duas enzimas, a beta-secretase, que cliva inicialmente a APP originando um fragmento que é, posteriormente, clivado pela gama-secretase originando-se, como produto final desta cascata de eventos bioquímicos a beta amilóide<sup>(2)</sup>.

A beta amilóide é um péptido que está presente no cérebro e no líquido cefalorraquidiano de todos os seres humanos. Desta fazem parte o fragmento 40 de beta amilóide e o fragmento 42 de beta amilóide<sup>(9)</sup>, sendo a beta amilóide 40 o fragmento mais frequente. O fragmento 42 apresenta maior tendência para formar agregados que conduzem a toxicidade neuronal. Num cérebro com as suas funções normais, o peptídeo de beta amilóide sofre ação enzimática e de degradação que levam à sua eliminação do cérebro. Quando a situação cerebral já se encontra comprometida, os fragmentos de beta amilóide não são eliminados e tendem a acumular-se, levando à formação de placas senis<sup>(3)</sup>.



**Figura 4:** Processamento proteolítico da APP e beta amiloide. **Via alfa-secretase:** a APP é degradada pela alfa-secretase a amiloide. Esta via não conduz a alterações no cérebro. **Via beta-secretase:** a APP é degradada pela Beta-secretase a um fragmento que posteriormente é degradado pela gama-secretase a dois fragmentos de beta amiloide. Depósitos de placa beta amiloide, 42 e 40, em que o primeiro conduz a neurodegenerescência e, posteriormente, Doença de Alzheimer.

(Figura baseada no artigo: The maze of APP processing in Alzheimer's disease: where did we go wrong in reasoning?<sup>(11)</sup>)

As alterações na formação da beta amiloide favorecem a sua agregação e a formação das placas senis e, seguidamente, ao depósito destas nos tecidos neuronais <sup>(2)</sup> (Figura 5). A presença de placas senis no cérebro é o principal marcador patológico da AD <sup>(12)</sup>. Num processo anterior à formação de placas senis, formam-se agregados de placas beta amiloide (oligómeros)<sup>(3)</sup> que desencadeiam a ativação de componentes celulares na imunidade inata no cérebro, tais como microglia e astrócitos, responsáveis pela proteção neuronal, libertando mediadores inflamatórios e várias moléculas imunes como citocinas, proteínas de fase aguda, entre outros <sup>(13)</sup>.

A APP está localizada no cromossoma 21q21<sup>(14)</sup>. Esta proteína no processo de transcrição sofre *splicing* alternativo, originando três transcritos: APP695, APP751 e APP770. A isoforma APP695 é expressa em maior quantidade nos neurónios enquanto que a isoforma APP751 é expressa sobretudo nos astrócitos <sup>(15)</sup>.

As mutações na APP têm suscitado particular interesse no que diz respeito aos mecanismos moleculares relativos à AD.

A mutação KM670/67NL, conhecida como mutação sueca, conduz a um aumento na concentração de beta amiloide, uma vez que melhora a eficiência de clivagem da beta-secretase<sup>(16)</sup>.

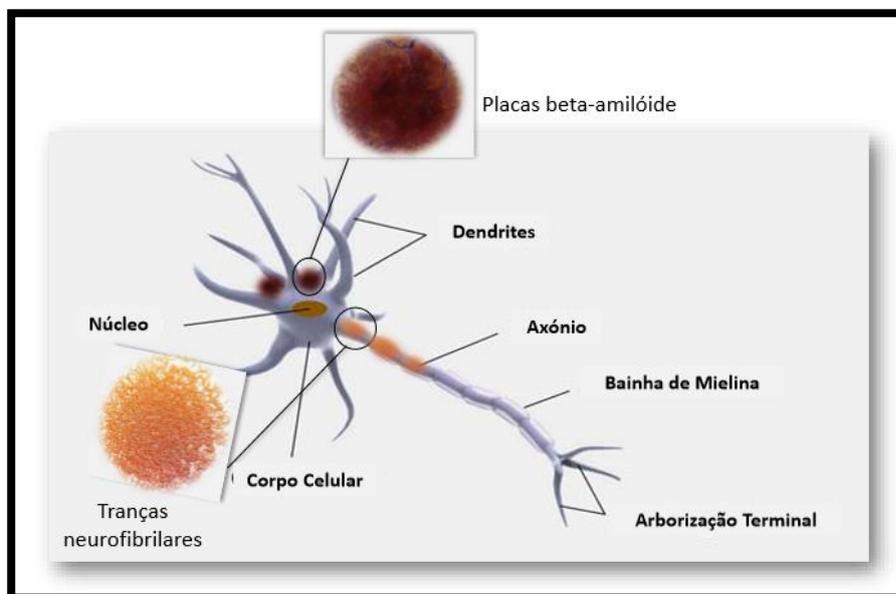
Várias mutações na APP ocorrem na porção C-terminal ou depois desta porção no domínio da beta amiloide. Estas mutações são responsáveis por alterar a função da gama secretase, conduzindo a alterações no processo proteolítico da APP que resultam no aumento da concentração do fragmento 42 de beta amiloide reduzindo a concentração do fragmento 40 de beta amiloide. A maior concentração maior do fragmento 42 aumenta a tendência para agregação e formação de placas senis <sup>(16)</sup> <sup>(17)</sup>.

A presenilina 1 (PSEN1) e presenilina 2 (PSEN2) são duas proteínas importantes do complexo da gama-secretase <sup>(17)</sup> que é responsável, como vimos anteriormente, por clivar o produto da beta secretase em fragmentos de beta amiloide. Esta família de proteínas localiza-se no retículo endoplasmático e no complexo de Golgi, onde têm um importante papel no processamento proteico <sup>(2)</sup>.

Embora ainda não se compreenda bem o impacto destas proteínas na enzima gama-secretase e, conseqüentemente, a sua contribuição na AD, um estudo<sup>(17)</sup> indicou que mutações na família das presenilinas afeta a função da gama-secretase, conduzindo à formação de taxas alteradas do fragmento de beta amiloide 42/ fragmento beta amiloide 40.

#### 4.2. Desregulação da fosforilação da tau e formação de tranças neurofibrilares

A neuropatologia da AD inclui, também a hiperfosforilação da proteína Tau que origina a formação de tranças neurofibrilares e pode conduzir, por si só, à patologia e sintomatologia associadas à AD, como se observa na figura 5.



**Figura 5:** Deposição das placas beta amiloide e de fragmentos Tau. A formação de placas beta amiloide e o consequente depósito neuronal, juntamente com a hiperfosforilação da proteína Tau e consequente formação de tranças neurofibrilares conduzem a alterações no normal funcionamento dos neurónios.

As tranças neurofibrilares são visíveis, habitualmente, em doenças neurodegenerativas e resultam da hiperfosforilação das proteínas Tau, que se agregam intracelularmente de forma anormal. As funções das proteínas Tau no seu estado normal incluem a regulação dinâmica de microtúbulos, que dependem do estado de fosforilação. Observando-se a figura 6, percebe-se que as alterações na fosforilação da Tau, têm um impacto ao nível da estabilidade dos microtúbulos, alterando o transporte axonal e comprometendo a viabilidade neuronal, com consequente impacto a nível cognitivo <sup>(10)</sup>.

A tau é uma proteína neuronal associada aos microtúbulos maioritariamente encontrada nos axónios. Nas condições fisiológicas normais, a tau interage com a tubulina e promove a sua associação nos microtúbulos, ajudando na estabilização da estrutura axonal <sup>(18)</sup>.

Comparando um cérebro saudável a um cérebro de um doente com AD, no primeiro apenas 2 a 3 resíduos de aminoácidos da tau são fosforilados, ao invés que no segundo, o nível de fosforilação da tau é bastante elevado, e em média são fosforilados cerca de 9 resíduos <sup>(18)</sup>.

A hiperfosforilação da tau pode ocorrer em três diferentes resíduos através da alteração da atividade das tau cinases e das tau fosfatases <sup>(18)</sup>.

A maioria das tau cinases incluem a cinase glicogénio sintetase 3 beta (GSK-3beta), cinase dependente de ciclinas 5 (CDK5), cinase dependente de cAMP (PKA), cinase ativada por mitogénios (MAPK), cinase dependente de cálcio e calmodulina (CaMK II), e cinase reguladora da afinidade aos microtúbulo (MARK) <sup>(18)</sup> e quando alteradas podem estar envolvidas na AD.

As tau fosfatases são responsáveis pelo processo de desfosforilação da tau, principalmente a proteína fosfatase 2 (PP2A) que tem um papel importante na desfosforilação da tau quando hiperfosforilada. Alterações nas fosfatases, como a inibição da sua atividade, e um aumento da expressão das cinases pode comprometer o processo de desfosforilação da tau e potenciar o seu estado de hiperfosforilação, característico da AD <sup>(18)</sup>.

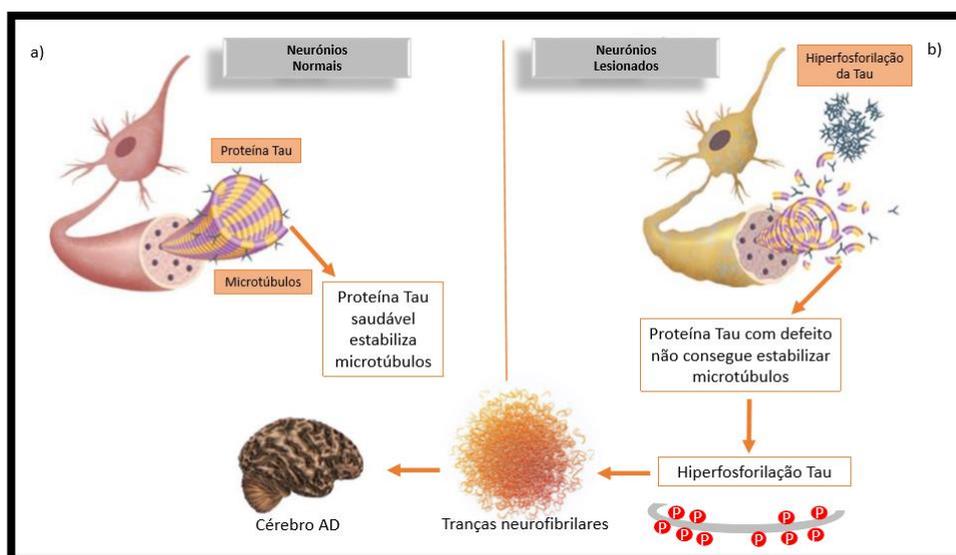
Muito se tem questionado sobre a relação da patogenicidade das placas senis de beta amiloide e das tranças neurofibrilares devido à hiperfosforilação da proteína tau <sup>(18) (19)</sup>.

Sugere-se, através de um estudo realizado, que a beta amiloide solúvel induz a hiperfosforilação da tau. Através de PSEN1 mutada e de APP também mutada, há produção de beta amiloide oligomérica em células doadoras que resultou numa hiperfosforilação similar em células recetoras. O mecanismo por trás desta conclusão é o sinal de transdução de insulina reduzido, visto que com sinal reduzido a fosforilação de AKT e GSK3beta têm menor ativação. Se se tratar células com um fármaco anti insulínico, como uma glitazona, a hiperfosforilação da tau é reduzida. Assim, uma correta desregulação do sinal insulínico pode ser uma potencial abordagem terapêutica <sup>(19)</sup>.

Existem abordagens a ser estudadas e desenvolvidas que procuram reduzir ou até eliminar a agregação de beta amiloide<sup>(3)</sup>.

A abordagem passa por inibir a via da beta secretase da APP ou potenciar a via da alfa secretase. No primeiro caso, se inibir a via da beta secretase, há menos formação de beta amiloide; no segundo caso, potenciar a ação da alfa secretase desloca mais o complexo APP para a via alfa secretase<sup>(3)</sup> reduzindo de forma indireta a formação de beta amiloide, pois haverá menos APP para ser clivada pela beta secretase e pela gama secretase.

As cinases estão na base da hiperfosforilação da tau. A abordagem principal deve passar pela inibição dos seguintes alvos terapêuticos: GSK-3 $\beta$ , CDK5, CK-1, PKA, CaMK II e MAPK com objetivo de reduzir a hiperfosforilação da tau e a sua patogenicidade nos neurónios<sup>(18)</sup>.



**Figura 6:** a) A proteína Tau é responsável pela estabilização dos microtúbulos. Na situação a) a proteína Tau apresenta-se na sua forma normal estabilizando os microtúbulos não se verificando hiperfosforilação da proteína. Não há alteração da função neuronal. b) A proteína Tau tem defeito e, consequentemente, não consegue fixar os microtúbulos. Ocorre hiperfosforilação desta proteína e formação de tranças neurofibrilares, que, conduzem a lesão neuronal e, posteriormente, ao aparecimento de AD.

Diversos estudos<sup>(20)(21)(22)</sup>, têm examinado a genética de biomarcadores do plasma e do líquido líquido cefalorraquidiano, estando o grande foco na proteína beta-amiloide e na proteína Tau, como possíveis biomarcadores da doença de Alzheimer<sup>(2)</sup>.

A acumulação de fragmentos beta amiloide e de proteína tau surge numa fase pré-clínica de AD e estes são detetados através do líquido cefalorraquidiano e/ou através de neuroimagem

de biomarcadores. A presença de biomarcadores no líquido cefalorraquidiano tem sido reconhecida como a chave de pesquisa de doença na fase pré-clínica <sup>(20)</sup>.

Doentes sintomáticos com AD normalmente apresentam um perfil de fragmento 42 de beta amiloide reduzido no líquido cefalorraquidiano e maior concentração de tau no mesmo <sup>(20)</sup>.

Doentes cognitivamente normais podem evidenciar um dos biomarcadores de AD com valores anormais de beta amiloide comparativamente a alterações da tau <sup>(20)</sup>.

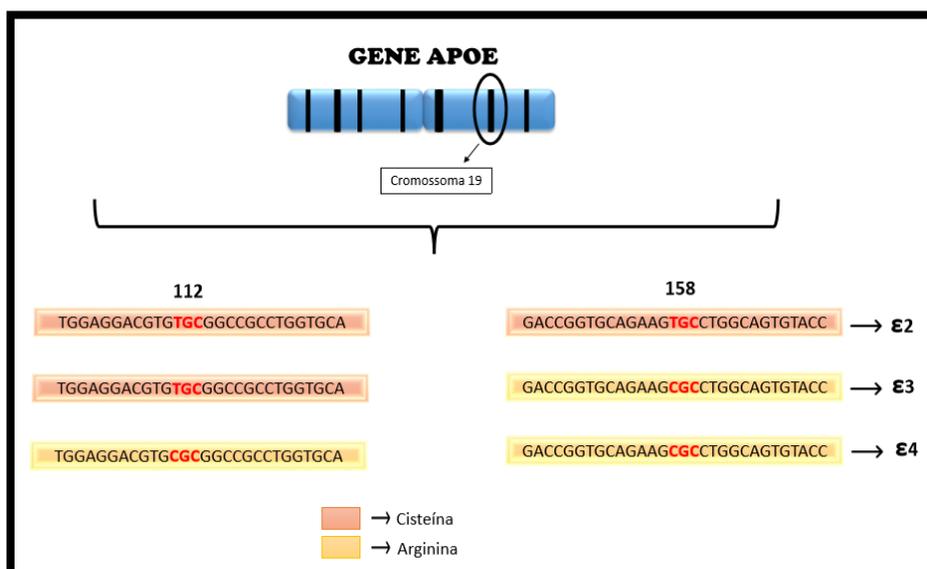
### 4.3. ApoE

A apoE constitui no plasma um dos principais componentes das lipoproteínas de baixa densidade e das lipoproteínas de alta intensidade (VLDL) e de lipoproteínas de alta densidade (HDL) e está envolvida na redistribuição de triglicéridos e colesterol em diferentes tecidos <sup>(23)</sup>.

A apoE é uma glicoproteína com 317 aminoácidos e esta apolipoproteína é sintetizada, na sua maioria, no fígado, de onde é excretada para o plasma. Nos seres humanos, o cérebro é o segundo local de síntese de apoE, sendo produzida pelos astrócitos e pela micróglia <sup>(23)</sup>.

Uma vez que, se identificou a variante apoE como factor de risco para a AD, sugere-se, assim, que o colesterol possa ter um papel importante na patogenicidade da AD <sup>(23)</sup>.

Existem dois polimorfismos não sinónimos no gene APOE: rs7412 que define o alelo APOE 2, e rs429358 que caracteriza o alelo APOE 4. O alelo APOE 2 apresenta no codão 112 e 158 um resíduo de cisteína, ao invés do alelo APOE 4 que apresenta nesses mesmos locais um resíduo de arginina. Estes polimorfismos podem estar relacionados com as alterações de estrutura e função da APOE <sup>(24)</sup>, tal como se pode observar na figura 7.



**Figura 7:** O Gene APOE, mais especificamente o cromossoma 19, apresenta dois polimorfismos na posição 112 e 158 que caracterizam os três principais alelos ε2, ε3 e ε4. O alelo ε2 apresenta na posição 112 e 158 um resíduo de cisteína, ao invés do alelo ε4 que apresenta nessas mesmas posições o resíduo de arginina.

(Figura baseada no artigo Eto EMDIASN. *Apolipoproteína E e a doença de Alzheimer* <sup>(23)</sup>)

O alelo APOE 4 tem vindo a ser associado ao aumento do risco para o desenvolvimento da AD. Por outro lado, o APOE 2 confere proteção contra o desenvolvimento de AD <sup>(25)</sup>.

Nos humanos o alelo mais comum é APOE 3. APOE 2 tem vindo a ser associado com mais de 50% da redução do risco da doença de alzheimer, enquanto que o alelo APOE 4 tem sido associado ao aumento do risco para a doença <sup>(24)</sup>.

Os alelos APOE podem gerar cinco genótipos descritos por ordem de aumento de risco de AD: ε2/ ε2, ε2/ ε3, ε3/ ε3, ε2/ ε4, ε3/ ε4 e ε4/ ε4 <sup>(24)</sup>.

A maioria dos casos de AD são esporádicos e é urgente definir tratamentos que atuem na fase pré clínica. Tal pode ser possível se conhecermos os fatores de risco ambientais e genéticos que modulam as marcas patológicas da doença <sup>(25)</sup>. Assim, conhecer a relação do risco APOE ε4, com a deposição de placas beta amilóide, precursoras no desenvolvimento de AD, pode ser vantajoso.

Vários estudos tem sido realizados sobre esta área<sup>(25)(24)(26)</sup>, e ao mesmo tempo tem-se colocado diversas hipóteses relativamente ao facto de como o APOE ε4 pode afetar o risco de desenvolvimento de AD e como pode este alelo afetar a marca patológica de beta amiloide. Observou-se que indivíduos que carregam o alelo APOE ε4 tem maior deposição de placas beta amiloide e maior PIB (*Pittsburgh compound B*) comparativamente a indivíduos negativos para este mesmo alelo<sup>(24)(25)</sup>.

Estudos realizados em ratos transgênicos demonstraram que os genótipos de APOE tem diferente influência na clearance de beta amilóide, verificando-se que o genótipo ε4/ ε4 está associado a um maior valor desta, estimulando uma maior acumulação de beta amilóide no cérebro<sup>(24)(25)</sup>.

Além dos estudos realizados em modelos animais, observou-se também em estudos humanos<sup>(25)</sup> a relação de APOE ε4 com o aumento dos níveis de beta amilóide, estudos estes consistentes com os modelos de que o alelo APOE ε4 afeta a deposição de beta amiloide e a sua clearance<sup>(26)</sup>.

O grande risco associado ao desenvolvimento de AD em portadores do alelo APOE ε4 sugere que este afeta mais do que um passo da patogenicidade desta doença. Um estudo revelou que APOE afeta a ativação da microglia podendo estar envolvido no controlo de outros marcadores de doença, isto é, um aumento da ativação de glia que expresse APOE ε4 aumenta a doença cerebral e, conseqüentemente, há aumento da degeneração cerebral<sup>(26)</sup>.

O alelo APOE ε4 aumenta suscetibilidade à inflamação causada por diversos tipos de danos cerebrais, conduzindo a alterações estruturais e funcionais de determinadas zonas do cérebro. Portadores deste alelo têm uma indução crónica de níveis baixos de inflamação ao longo das suas vidas que aumenta a predisposição de danos no cérebro que se acumulam com a idade<sup>(26)</sup>.

## 5. Profilaxia da Doença de Alzheimer

Como se tem visto ao longo desta revisão, a doença de Alzheimer é uma patologia para a qual não existe cura sendo apenas detetada quando já está instalada e quando os sintomas já são visíveis. O aparecimento da doença está muito associada à idade, sendo a população sénior mais suscetível ao desenvolvimento de doenças que se relacionem com a demência <sup>(27)</sup>.

E se através de ações não farmacológicas fosse possível prevenir a doença?

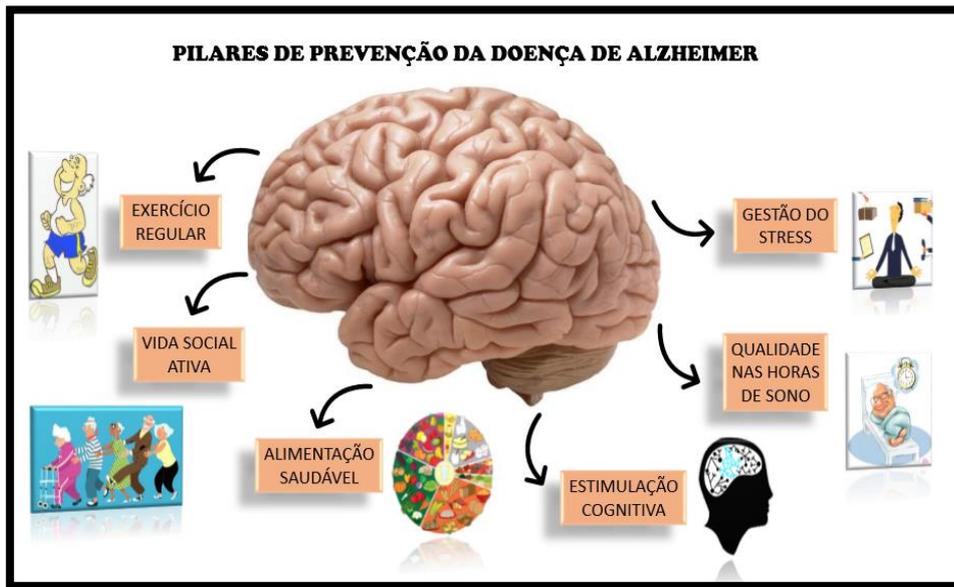
Muito se tem publicado sobre este assunto <sup>(28)</sup> <sup>(27)</sup>, assumindo-se hoje que existe um conjunto de alterações no estilo de vida que podem evitar a manifestação dos sintomas e até, retardar ou mesmo reverter a degeneração neuronal <sup>(28)</sup>.

O principal objetivo na prevenção e controlo da AD é reduzir a incidência da doença através de estratégias que sejam utilizadas antes do aparecimento da mesma, tais como a adoção de um estilo de vida saudável, evitando potenciais causadores de AD <sup>(27)</sup>. Existem sete pilares essenciais de prevenção <sup>(28)</sup> que se incluem neste objetivo, como apresentado na figura 8.

O segundo objetivo de prevenção deve assentar em evitar a progressão da doença em fases pré-clínicas <sup>(27)</sup>.

O último objetivo foca a importância da gestão das complicações da doença numa fase clínica, maximizando a qualidade de vida do doente <sup>(27)</sup>.

A estratégia/objetivo varia de doente para doente, uma vez que se deve atuar consoante a fase em que se encontrar o doente, isto é, o objetivo depende se o doente se apresente com mudanças neuropatológicas ou se já se encontra numa fase com sintomas clínicos <sup>(27)</sup>.



**Figura 8:** Os sete pilares de prevenção da AD: exercício regular; vida social ativa; alimentação saudável; estimulação cognitiva; qualidade nas horas de sono e gestão do stress.

(Figura baseada no artigo: *Preventing Alzheimer 's Disease* <sup>(29)</sup>)

## 6. Terapêutica

As estratégias disponíveis ou em desenvolvimento para profilaxia e controlo de AD incluem a quimioterapia, a terapia génica, a terapia celular e o desenvolvimento de vacinas.

Como já referido ao longo do trabalho, ainda não existe cura para a AD, sendo as terapêuticas utilizadas para aliviar a sintomatologia. Os tratamentos farmacológicos aprovados reduzem temporariamente os sintomas de demência, mas verifica-se que estes falham em reduzir o progresso da doença <sup>(30)</sup>.

Desde 2003 que não é aprovado um novo tratamento para a AD <sup>(30)</sup> e não há ainda previsões de se conseguir encontrar a breve trecho uma terapia eficaz que cure esta doença. Todavia, vários grupos de investigação dedicam-se ao estudo dos mecanismos da doença, o que permite identificar alvos terapêuticos preferenciais e contribui para o desenvolvimento de terapêuticas.

Na secção 13 desta revisão bibliográfica, disponibiliza-se uma tabela resumo com as principais características das terapêuticas disponíveis para o tratamento da AD (tabela 2).

Com base nos estudos já realizados sobre a fisiopatologia da AD, os principais alvos terapêuticos identificados como relevantes no desenvolvimento de fármacos para controlo da doença são: Proteína percussora amiloide; Péptido beta amiloide; Proteína tau; Alelo ApoE0 e algumas cinases.

Nesta secção, faz-se uma revisão dos fármacos atualmente disponíveis com indicação para Doença de Alzheimer. Os fármacos utilizados como primeira linha na AD (média a moderada) são: o Donepezil, a Galantamina e a Rivastigmina <sup>(31)</sup>, Descreve-se em seguida o modo de ação destas substâncias.

## 6.1. Fármacos colinérgicos

A AD é caracterizada por uma perda neuronal significativa que resulta numa redução generalizada da atividade colinérgica nos tecidos afetados. A atividade colinérgica é regulada pelos neurotransmissor acetilcolina, responsável por campos como a atenção e a memória <sup>(31)</sup>.

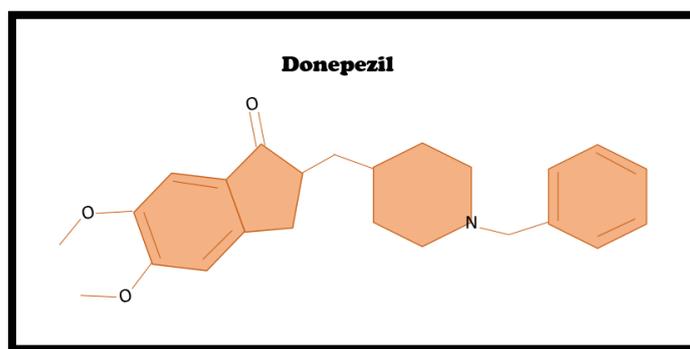
A acetilcolina é um dos neurotransmissores mais abundantes do sistema nervoso e liga-se a recetores muscarínicos e nicotínicos. A sua ação na sinapse é terminada pela atuação da enzima acetilcolinesterase, responsável pela degradação da acetilcolina em acetato e colina.

Pacientes com AD apresentam maiores níveis de acetilcolinesterase no cérebro e consequentemente níveis mais baixos de acetilcolina <sup>(31)</sup>.

Assim, uma possível abordagem terapêutica passa pela inibição da acetilcolinesterase levando a um aumento da concentração de acetilcolina na fenda sináptica. Os fármacos inibem a enzima responsável pela degradação de acetilcolina nas sinapses <sup>(31)</sup>, permitindo um melhor funcionamento das sinapses colinérgicas e retardando a perda neuronal.

Os fármacos usados na AD que atuam por inibição da acetilcolinesterase apresentam propriedades ligeiramente diferentes entre si, mas todos assentam no mesmo princípio de ação: inibir a degradação de acetilcolina, de forma a aumentar a concentração sináptica deste neurotransmissor, que está relacionada com a memória e a capacidade cognitiva, atrasando assim a progressão da doença <sup>(31)</sup>. Descrevem-se em seguida as características dos fármacos donepezil e rivastigmina, conhecidos por fármacos colinérgicos, apresentando as suas estruturas químicas.

## 6.1.1. Donepezil



**Figura 8:** Representação da estrutura química do fármaco Donepezil

O donepezil (figura 8) é um inibidor reversível da acetilcolinesterase, bastante seletivo, aprovado para a AD<sup>(32)</sup>. Quando este inibido competitivo reversível se encontra ligado ao local ativo da acetilcolinesterase, maior a fração livre de acetilcolina e maior a capacidade de comunicação entre neurónios através deste neurotransmissor, como representado na figura 10.

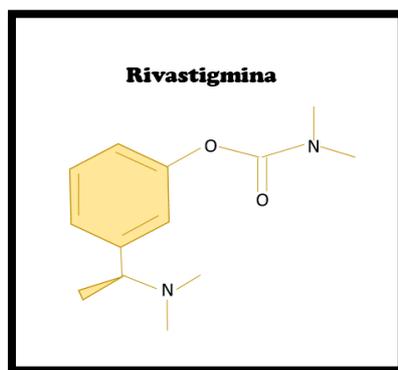
O maior problema associado a este fármaco resulta da variabilidade de fatores entre doentes que conduz a dificuldades no estabelecimento da dose adequada para cada paciente.

Efetivamente, vários estudos têm demonstrado que a resposta à dose do fármaco pode estar relacionada com fatores como: idade do doente; género; peso; duração do tratamento e gravidade funcional do doente. Ainda se demonstrou neste estudo que doentes que aumentassem a dose para doses superiores a 10mg (dose padrão) apresentavam efeitos cognitivos benéficos comparados aos doentes que mantinham a dose<sup>(32)</sup>, o que resulta de a fração de inibidor competitivo ser maior, contrariando respostas fisiológicas que envolvam a síntese de acetilcolinesterase, que levaria a um aumento da taxa de enzima livre.

É de salientar que a análise de tecidos cerebrais revelou existir um maior défice colinérgico em doentes com sintomas clínicos mais graves <sup>(32)</sup>.

Tal pode dever-se ao facto de a função neuronal já se encontrar bastante comprometida e, nestes casos, já é difícil a acetilcolina livre gerar comunicação neuronal, mesmo utilizando um fármaco com as características do donepezil.

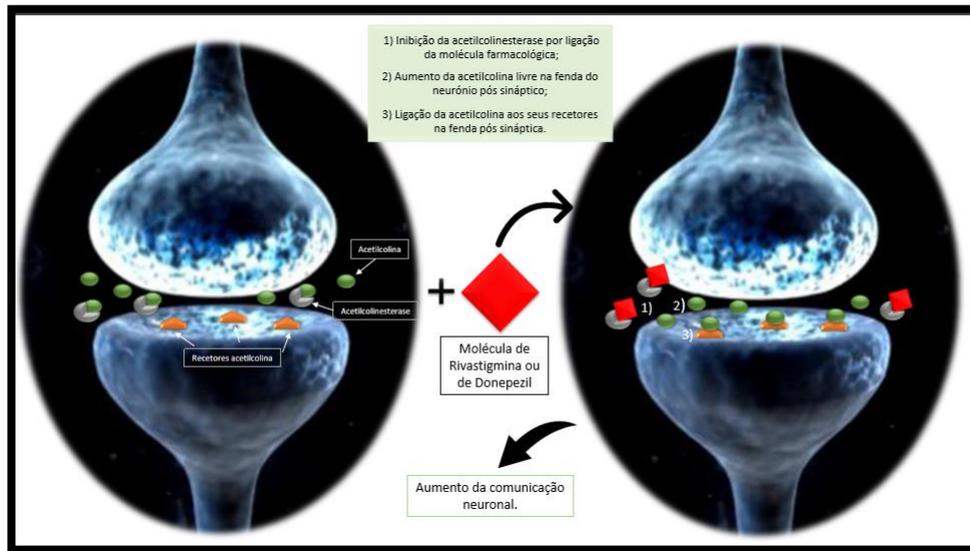
### 6.1.2. Rivastigmina



**Figura 9:** Representação da estrutura química do fármaco Rivastigmina

A rivastigmina (figura 9) é o fármaco responsável por inibir a acetilcolinesterase de forma irreversível, através das ligações covalentes que estabelece com o sítio ativo da enzima, reagindo com um hidroxilo serínico no seu centro ativo <sup>(31)</sup> (Figura 10).

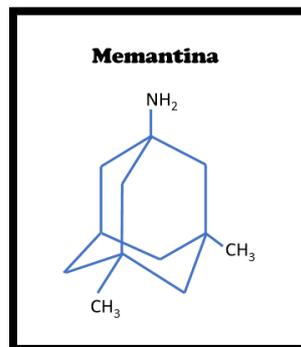
Em todos os estudos realizados com rivastigmina em doentes com AD ou Parkinson, verificou-se que este fármaco é bem tolerado e eficaz no que diz respeito à progressão da AD <sup>(31)</sup>.



**Figura 10:** Os fármacos donepezil e rivastigmina utilizados na terapêutica da Doença de Alzheimer atuam segundo o mesmo mecanismo de ação, inibindo a acetilcolinesterase e impedindo que esta degrade a acetilcolina livre. A acetilcolina liga-se aos receptores colinérgicos, observando-se um aumento da comunicação neuronal.

## 6.2. Inibidores dos receptores de glutamato

### 6.2.1. Memantina



**Figura 11:** Representação da estrutura química do fármaco Memantina

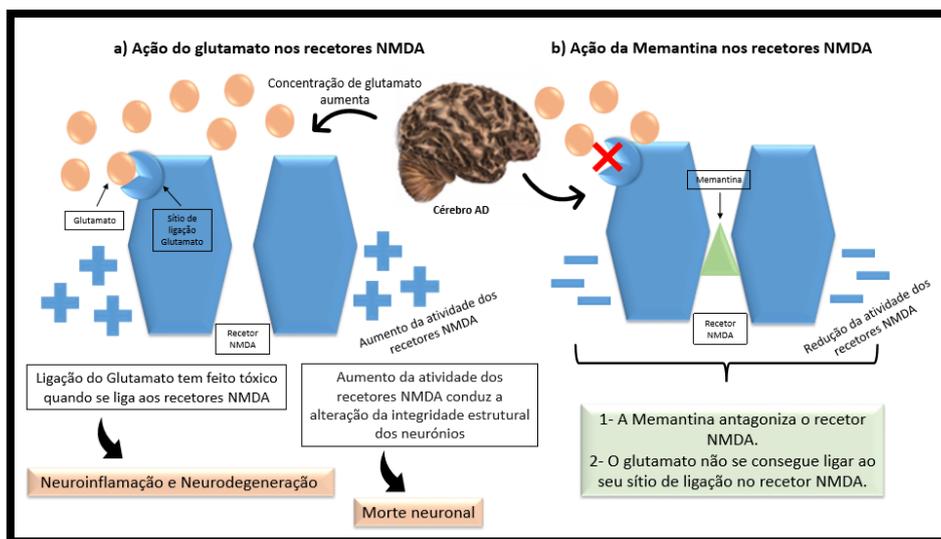
O fármaco memantina (figura 11) é um antagonista não competitivo, de afinidade moderada, do recetor N-metil-D-Aspartato (NMDA) e um bloqueador de canal aberto dos receptores nicotínicos e NMDA (33), aprovado no tratamento da AD, moderada a severa. O modo de ação da memantina encontra-se representado na figura 12b <sup>(34)</sup>.

Em pacientes com AD verifica-se um aumento das concentrações de glutamato. Este aumento de concentração pode ocorrer devido à deposição de placas beta amilóide e/ou à hiperfosforilação da tau. Com o aumento do glutamato há um aumento da atividade dos recetores NMDA<sup>(35)</sup>. Observam-se assim dois estados bioquímicos patológicos: o aumento dos níveis de glutamato e o aumento da ativação dos recetores NMDA (figura 12a)<sup>(35)</sup>.

O glutamato apresenta um efeito tóxico quando se liga aos recetores NMDA e tem vindo a ser associado a estados de neuro inflamação e neuro degeneração característicos de AD<sup>(35)</sup>. Por outro lado, sabe-se que, a elevação crónica da atividade de recetores NMDA prejudica, mas não anula a síntese de ATP mitocondrial. Porém, dada a desregulação transcricional de genes e a alteração da integridade estrutural dos neurónios, estes entram em processo de destruição e, consequentemente, sofrem morte celular<sup>(35)</sup>.

A memantina é clinicamente bem tolerada e tem mostrado ser eficaz no que diz respeito a melhorar alguns dos sintomas da AD<sup>(36)</sup>.

A combinação da memantina com inibidores da acetilcolinesterase pode ser utilizada no tratamento da AD devido aos dois mecanismos de ação atuarem de forma a melhorar o processo cognitivo do doente<sup>(33)</sup>.



**Figura 12:** a) Representação do modo de ação da memantina. No cérebro de pacientes com AD a concentração de glutamato aumenta. O glutamato liga-se ao recetor NMDA aumentando a atividade deste recetor. Observam-se, assim, dois estados bioquímicos patológicos: o aumento dos níveis de glutamato e o aumento da ativação dos recetores NMDA, que conduzem a neuroinflamação juntamente com neurodegeneração e a morte neuronal, respetivamente. b) A memantina é um antagonista não competitivo do recetor N-metil-D-Aspartato (NMDA), utilizado na terapêutica da AD, que ao ligar-se a este recetor reduz a sua atividade e diminui a ligação do glutamato ao sítio de ligação do recetor NMDA.

Relativamente à eficácia de ação dos fármacos de 1ª linha utilizados na AD existem diversos estudos sobre o tema.

Os inibidores de acetilcolinesterase são normalmente prescritos a doentes com AD média a moderada e são muitas vezes utilizados no máximo por um ano <sup>(33)</sup>.

Esta classe tem também demonstrado benefícios num grupo amplo de demência mais severa. Além dos benefícios cognitivos, funcionais e comportamentais verifica-se que estes fármacos reduzem a mortalidade e melhoram o estado de cognição até 2 anos <sup>(33)</sup>.

Os doentes utilizadores de memantina são normalmente mais idosos, com um maior grau de demência, mais disfuncionais e com maiores comorbilidades, comparando com os doentes que utilizam apenas inibidores de acetilcolinesterases <sup>(33)</sup>.

Existem vários estudos relativamente à utilização de terapêuticas de combinação, combinando inibidores de acetilcolinesterase com inibidores NMDA.

Um estudo indicou que doentes que tomam memantina não beneficiam da adição de um inibidor de acetilcolinesterase <sup>(33)</sup>.

Outro estudo <sup>(37)</sup> avaliou a eficácia da memantina administrada com um inibidor da acetilcolinesterase em pacientes com AD.

Os autores concluíram que o tratamento combinado com estes dois tipos de fármacos de primeira linha, sobretudo donepezil combinado com memantina, foi eficaz em pacientes com AD, no 6º mês de toma, particularmente em atrasar as alterações cognitivas e impedir o início da agitação e agressividade <sup>(37)</sup>.

Outro estudo avaliou o efeito das drogas de primeira linha (memantina, donepezil, rivastigmina) nos sintomas comportamentais e psicológicos dos doentes com AD e concluiu que todos os fármacos referidos tiveram efeitos significativos a 12 meses, especialmente a memantina e rivastigmina, sugerindo que estes fármacos são úteis na melhoria dos sintomas comportamentais e psicológicos dos doentes com AD <sup>(38)</sup>.

Um outro estudo acompanhou cerca de 1000 doentes com diagnóstico de AD, e analisou o impacto do tratamento com inibidores da acetilcolinesterase na sobrevivência dos doentes. Os resultados indicam que pode ser esperada uma maior esperança de vida para doentes que conseguem fazer doses mais altas e durante mais tempo <sup>(39)</sup>.

## 7. Terapia genética

Existem diversos estudos realizados e a decorrer, de Terapia génica. No entanto, nesta revisão bibliográfica, descrevem-se apenas dois exemplos de estudos, considerados relevantes, com o intuito de exemplificar o tipo de estudos realizados nesta área de futuro e através destes demonstrar os resultados e as principais limitações deste tipo de ensaios.

### 7.1. Ação do gene PGC-1 $\alpha$ na redução das placas senis na AD

As terapias existentes para a AD são sintomáticas e não têm como alvo a patologia subjacente relativamente às placas beta-amilóide e outras marcas importantes como a perda neuronal. O co-ativador PPAR $\gamma$ -1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) é um cofator para a transcrição de fatores como o PPAR $\gamma$  (Proliferador peroxissoma recetor-  $\gamma$  ativado) que está envolvido na regulação metabólica de genes, na fosforilação oxidativa e na biogénese mitocondrial <sup>(40)</sup>.

PGC-1 $\alpha$  também regula a transcrição de APP, enzima de clivagem (BACE1) que é a principal envolvida na formação de placas A $\beta$ , e a sua expressão está diminuída em doentes com Doença de Alzheimer <sup>(40)</sup>.

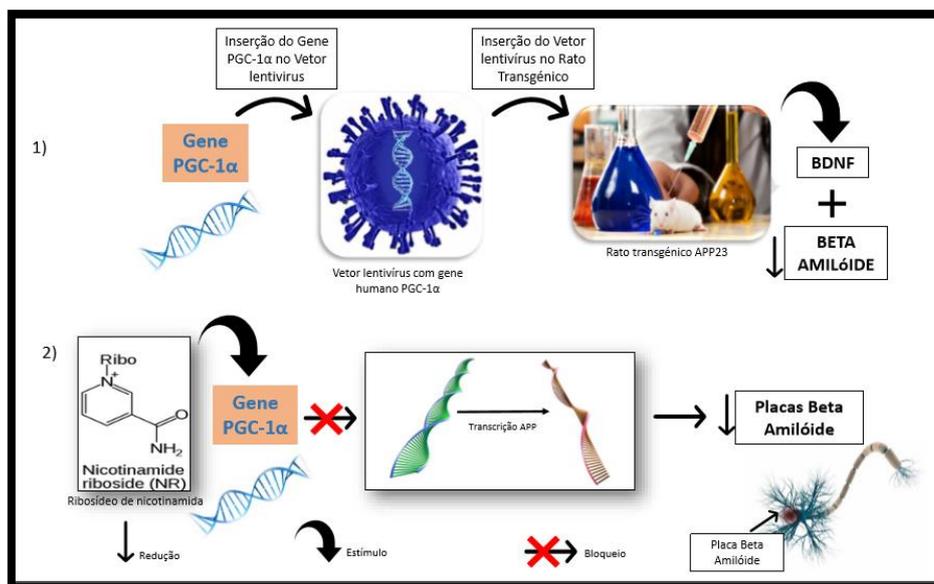
PGC-1 $\alpha$  é fortemente expressa em tecidos de elevada energia como o tecido adiposo, fígado, musculo esquelético, coração, rim e cérebro <sup>(40)</sup> e tem sido implicada em várias doenças neurodegenerativas e a sua expressão é reduzida em cérebros de doentes com doença de alzheimer <sup>(40)</sup>.

Estudos com ratos Tg2576 com deficiência em PGC-1 $\alpha$  ou silenciamento do gene PGC-1 $\alpha$  através da transfeção siRNA em células neuronais mostraram um aumento dos níveis de A $\beta$  <sup>(40)</sup>.

O objetivo do estudo foi gerar um vetor lentivírus que expressasse o gene humano PGC-1 $\alpha$  e coloca-lo em regiões definidas do cérebro de um murganho transgénico APP23 por

transmissão estereotática que permitiu avaliar os efeitos específicos do regulador transcricional e definir a terapia génica na AD, tal como se observa na figura 13-1. Os resultados mostraram que o gene PGC-1 $\alpha$  previne a perda neuronal por aumento dos fatores de crescimento juntamente com o decréscimo da neuro-inflamação mediada por beta amiloide nestes animais, consolidando-se a hipótese do potencial do gene PGC-1 $\alpha$  no tratamento da AD<sup>(40)</sup>. Por outro lado, observou-se que a estimulação farmacológica de PGC-1 $\alpha$  sintetizado com ribosídeo de nicotinamida, precursor de NAD<sup>+</sup>, resultou numa redução dos níveis de beta amiloide juntamente com uma atenuação da deterioração no murganho Tg2576. Para além disso, o tratamento com resveratrol, outro ativador do gene PGC-1 $\alpha$  aumentou a atividade de degradação de beta amiloide e reduziu as placas senis<sup>(40)</sup> (Figura 13-2)).

Assim, colocou-se a hipótese da terapia génica com PGC-1 $\alpha$ , uma vez que este gene, quando no cérebro, pode ser neuro protetor devido ao seu efeito na transcrição de genes envolvidos na produção de beta amiloide, no metabolismo de glucose e energético e no stress oxidativo<sup>(41)</sup>.



**Figura 13: 1)** Introdução de um vetor lentivírus que expressou o gene humano PGC-1 $\alpha$  em regiões definidas do cérebro de um rato transgênico APP23. Observou-se que o gene PGC-1 $\alpha$  previne a perda neuronal por aumento dos fatores de crescimento (BDNF) juntamente com a diminuição da neuro-inflamação mediada por beta amiloide; **2)** A estimulação farmacológica de PGC-1 $\alpha$  sintetizado com ribosídeo de nicotinamida conduz ao bloqueio da transcrição de APP e consequentemente a uma redução dos níveis de amiloide e logo menor a deposição de placas senis.

Porém, em pessoas com sintomatologia evidente, estes achados são questionáveis, pois haverá já algum declínio devido à presença de placas beta amiloide e Tau que conduzem à perda neuronal e nesta fase o gene PGC-1  $\alpha$  pode apenas evitar a posterior perda neuronal, mas não corrige a que já ocorreu anteriormente. Ainda assim, numa fase muito inicial este gene PGC-1  $\alpha$  poderá fazer sentido. Estimulando-se fatores de crescimento em regiões ainda precocemente afetadas do cérebro pode-se diminuir a perda neuronal que ocorreria na ausência desse gene e, assim, atrasar os sintomas major da doença. No entanto, são raros os casos que se diagnostica a AD sem a manifestação dos sintomas característicos da doença que só ocorrem numa fase pós perda neuronal.

## 7.2. Ação do gene CD33 nas células de microglia e o seu efeito na AD

A proteína transmembranar CD33 é uma lectina do tipo imunoglobulina que se liga ao ácido siálico que regula a imunidade inata, mas não possui funções conhecidas no cérebro <sup>(42)</sup>. Esta proteína é expressa em células do sistema imune, como células de microglia, e hematopoiético. A microglia são células imunes do cérebro e regulam processos importantes, incluindo a clearance de beta amiloide (figura 14.1) <sup>(42)</sup>.

O objetivo do estudo prendeu-se com a observação, in vivo, da ação de CD33 no cérebro <sup>(42)</sup>.

De notar, que o gene CD33 apresenta dois alelos, o minor e o major, tal como mostra a figura 12. O alelo minor de CD33 apresenta um SNP s3865444 e o major SNP rs3826656, em que o primeiro confere proteção contra a AD, pois está associado a reduções da expressão de CD33 e dos níveis de beta amilóide 42 num cérebro AD (figura 14.2a). A inibição de CD33 major revelou aumentar a clearance de fragmentos de beta amilóide 42 em culturas de células de microglia <sup>(42)</sup>.

Por outro lado, demonstrou-se que os níveis de CD33 major têm um impacto nos níveis de fragmentos de beta amilóide 42 regulados pela microglia e modulam a acumulação destes mesmos fragmentos e das placas beta amilóide em roedores transgênicos APP/PS1. Portanto, como se observa na figura 14.2b, o número de microglia positiva com CD33 correlaciona-se com os níveis de beta amilóide 42 e com a deposição de placas beta amiloide nos casos de AD <sup>(42)</sup>.

Assim, o aumento da atividade de CD33 major nas células de microglia contribuem para a etiologia e patogenicidade da AD através da acumulação de beta amilóide e consequentemente do seu potencial efeito tóxico <sup>(42)</sup>.

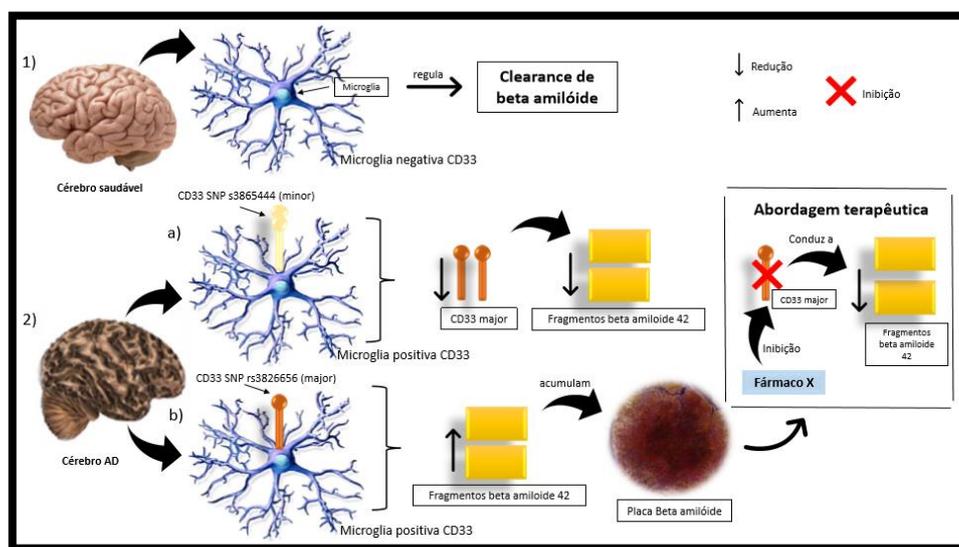
Em suma, os resultados do estudo demonstraram que CD33 tem um papel importante na patogenicidade da AD, uma vez que regula através da microglia a clearance de beta amiloide. Este gene pode ser, assim, um alvo estudar na prevenção da AD, devido ao aumento da

expressão deste gene estar aumentada em cérebros AD. Por outro lado, o alelo minor deste mesmo gene está associado uma capacidade de proteção contra a AD <sup>(42)</sup>.

É de notar que terapêuticas que têm como alvo CD33 já foram desenvolvidas para a leucemia mieloide aguda, devido à sua grande expressão na membrana de células mielóides <sup>(42)</sup>.

O estudo foi realizado em murganhos transgênicos com AD <sup>(42)</sup>. A inibição de CD33 só é possível quando já há manifestação da doença devido à presença deste gene, logo a ação terapêutica poderá não ser eficaz se a doença já se encontrar numa fase mais avançada.

Por outro lado, podem ser feitos estudos genéticos nos doentes para identificar se têm presente o alelo minor ou major, uma vez que o primeiro confere proteção na AD. Visto isto, um gene CD33 pode ser um alvo terapêutico para a AD, no entanto são necessários mais estudos que ajudem a perceber melhor a ação de CD33 na microglia e o seu papel na regulação de beta amiloide.



**Figura 14:** 1) A microglia tem um papel importante no cérebro saudável, pois regula a clearance de beta amiloide. 2) O gene CD33 encontra-se expresso em células microglia em cérebros AD. Este gene pode apresentar-se sob a forma de dois alelos. Em a) a célula de microglia expressa o alelo CD33 minor SNP s3865444. Este alelo quando presente na microglia reduz a expressão de CD33 e consequentemente reduz a formação de fragmentos de beta amiloide 42. Na situação b) o alelo presente major SNP rs3826656 regula através da microglia, a clearance de beta amiloide, diminuindo-a. Isto é, a CD33 neste caso conduz a aumento dos fragmentos beta amiloide 42 que se acumulam em placas beta amiloide. Conhecendo este mecanismo a abordagem terapêutica mais intuitiva passa por criar um fármaco que iniba a CD33 major e, assim, se reduza os fragmentos de beta amiloide 42.

## 8. Terapia celular

Entende-se por terapia celular o transplante ou introdução de células vivas num determinado paciente, a fim de substituir ou regenerar células ou tecidos danificados. Este tipo de células tem demonstrado particular interesse do ponto de vista em que podem alterar a forma como se realiza um diagnóstico e se toma uma decisão sobre um determinado tratamento nas mais variadas doenças <sup>(43)</sup>.

Tem-se observado que terapias celulares de impacto por múltiplos mecanismos contribuem para um aumento da eficácia do tratamento comparativamente às abordagens terapêuticas de descoberta de fármacos de um único alvo <sup>(30)</sup>.

Nos últimos anos, as esperanças de uma cura para doenças com comprometimento neuronal, têm aumentado devido a terapias de substituição celular que visam compensar as perdas dos sistemas neuronais <sup>(44)</sup>.

As células estaminais de tecidos e excertos embrionários e adultos retirados do cérebro de roedores são incorporados em parênquimas hospedeiros para que se diferenciem em linhagens neuronais funcionais <sup>(44)</sup>.

Observou-se que num cérebro AD, as células estaminais migram para as zonas do cérebro danificado onde aí estas se implantam, proliferam e amadurecem em neurónios funcionais <sup>(44)</sup>.

Em modelos animais de AD evidenciou-se que células estaminais transplantadas ou células precursoras neuronais (NPCs) sobrevivem, migram e se diferenciam em neurónios colinérgicos com melhorias nos défices de memória e aprendizagem <sup>(44)</sup>.

Além de substituírem as células danificadas ou perdidas, as células estaminais estimulam endogenamente os precursores neuronais, fortalecem as estruturas neuronais e diminuem os mecanismos pro-inflamatórios das citocinas e de apoptose das células neuronais <sup>(45)</sup>.

Em contrapartida, uma neurogênese deficiente nos adultos pode contribuir para a patogenicidade da AD <sup>(44)</sup>.

De seguida, apresentam-se hipóteses de abordagem terapêutica através da utilização de células estaminais em terapia celular (Figura 15).

### 8.1. Utilização de células estaminais em laboratório para encontrar o fármaco mais específico

As células estaminais têm demonstrado particular interesse não só pelas suas características, mas também porque podem mudar a forma como são testados e descobertos os medicamentos <sup>(43)</sup>.

Ao se pensar numa determinada doença, pensa-se automaticamente na melhor opção para a tratar. Mas como é possível saber se esse tratamento será o melhor para a doença em questão num determinado doente? Estas questões colocam-se, porque se sabe à partida que existe mais que um tratamento e que cada doente é singular na forma como irá responder.

De forma a reduzir os riscos de uma terapia ineficaz e de efeitos colaterais graves, as células estaminais têm demonstrado o seu valor no sentido em que se pode produzir diferentes tecidos em laboratório <sup>(43)</sup>.

Utilizando as capacidades das células estaminais podem desenvolver-se “mini” cérebros de determinado doente com as características do seu cérebro e estudar a partir daí patologias como AD e doença de Parkinson, devido às alterações que surgem nos modelos que estão associados à doença de interesse <sup>(46)</sup>.

Através da obtenção de células estaminais de um dado doente uma possível abordagem terapêutica poderia passar por se induzir a diferenciação das mesmas no tecido de interesse, isto é, no tecido lesado, e testar uma gama de medicamentos para determinar qual apresenta melhor resposta naquele doente.

Através deste tipo de abordagem, seria interessante testar diversos fármacos nos vários “mini” cérebros e identificar o ou os que respondem melhor à doença no doente específico, tal como é visível na Figura 15-A.

Com os meios possíveis e a dedicação necessária, esta poderá ser uma rampa de descoberta e lançamento de novos tratamentos para doenças ainda sem cura como são a AD e outras, além de que este tipo de estratégia pode ajudar a gerar mais medicamentos de melhor qualidade e num curto espaço de tempo.

## 8.2. Transplante de células estaminais neuronais diretamente para os tecidos lesados do doente

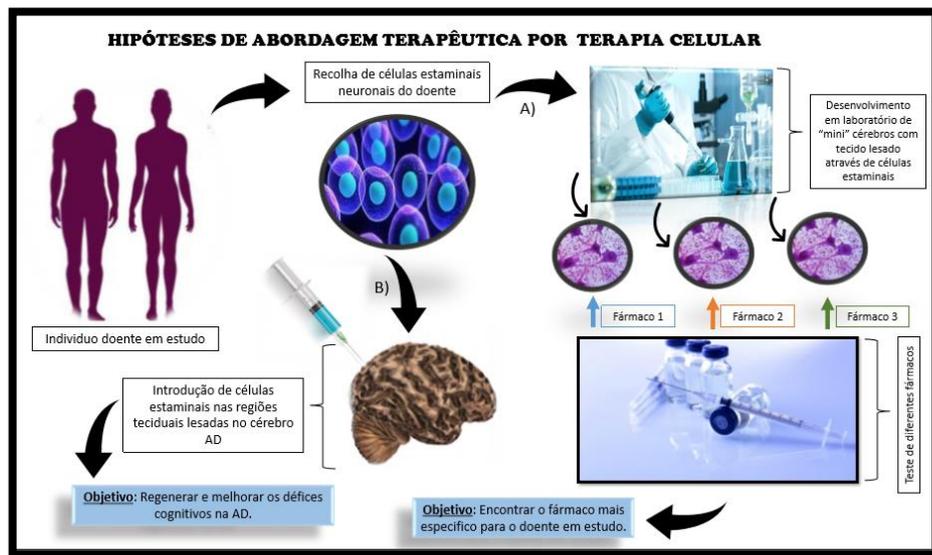
Os centros de memória e aprendizagem no cérebro são alvos atrativos para as terapêuticas celulares, uma vez que alterando a degeneração nestas áreas pode-se, potencialmente, melhorar os défices cognitivos na AD. Num estudo realizado num rato transgénico com AD observou-se que o transplante de células estaminais neuronais para o hipocampo melhorava a cognição, a sobrevivência neuronal e a função sináptica mediadas pela atividade de neurotrofinas (família de proteínas que induzem a sobrevivência, desenvolvimento e a função dos neurónios) derivadas de células estaminais<sup>(30)</sup>.

O estudo demonstra assim que o transplante de células estaminais neuronais do próprio doente para as zonas do cérebro mais lesadas potencia a atividade dos neurónios nesses locais melhorando o ambiente de doença (Figura 15-B). Um estudo descreveu uma nova e melhorada linha de células estaminais humanas que produzem quantidades aumentadas de fatores de crescimento benéficos para o ambiente da doença<sup>(30)</sup>.

Em suma, o transplante de células estaminais neuronais oferece uma abordagem inovadora e potencialmente transformadora no tratamento de doenças neurodegenerativas. A

segurança de algumas terapias com células tem que ser necessariamente estabelecida por diversos estudos clínicos <sup>(30)</sup>.

Para o progresso de estudos clínicos com este tipo de abordagem em doentes com AD é necessário que as linhas de células estaminais neuronais que fornecem a maior eficácia sejam identificadas <sup>(30)</sup>.



**Figura 15:** A) Através da recolha de células estaminais neuronais do doente desenvolve-se em laboratório pequenos modelos do cérebro do mesmo de forma a criar as condições semelhantes que permitam testar diferente fármacos; B) Transplante de células neuronais do indivíduo doente para as zonas do seu cérebro mais lesadas.

## 9. Imunização ativa da doença de Alzheimer com vacinas

Muito se tem colocado a questão sobre a possibilidade de se produzir vacinas contra a AD, tendo em conta que um dos mediadores principais do desencadeamento da doença é o péptido beta amilóide. Mas por outro lado, como tem vindo a ser repetido, ainda não é possível identificar o principal alvo na AD. Embora se saiba o papel que tem o péptido beta amilóide, não é definitivo que este seja o primeiro e o principal precursor <sup>(47)</sup>. Identifica-se assim um dos principais problemas desta abordagem: como saber onde se atuar inicialmente e qual a especificidade do anticorpo mais viável para impedir o aparecimento da doença?

Muitas outras questões se colocam como: se a imunização ativa será ou não possível evitar o aparecimento da doença e até que ponto é viável e seguro este tipo de abordagem.

Vários estudos têm sido realizados e muito se têm discutido sobre esta hipótese, no entanto mais uma vez este tipo de estudo é testado em roedores que nas suas capacidades físicas e sociais se distanciam dos humanos <sup>(47)</sup> <sup>(48)</sup>.

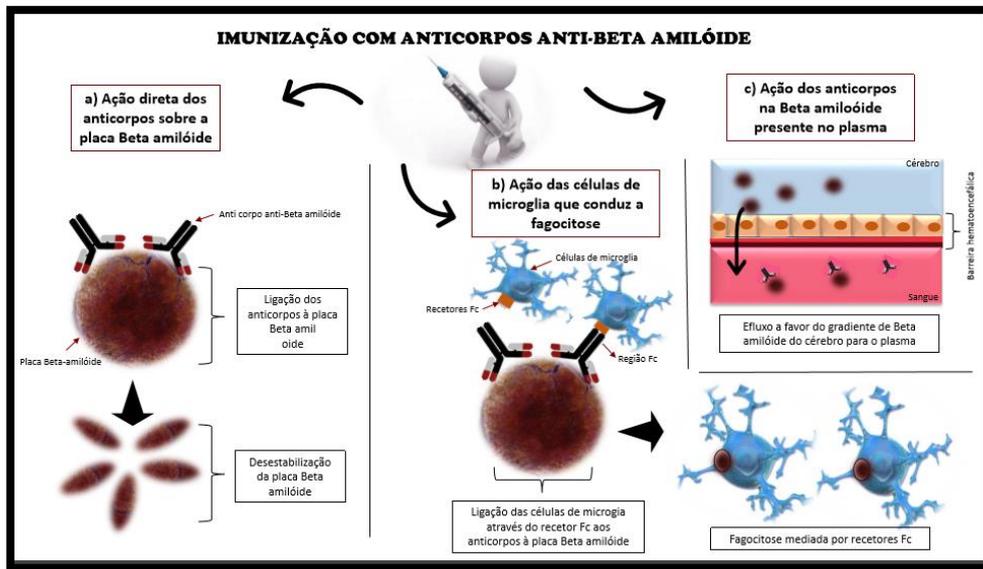
De uma forma geral, a ideia de uma vacina contra o aparecimento da AD que permitisse uma redução do aparecimento da doença, nas gerações futuras faz todo o sentido.

Os estudos realizados em roedores apoiam que a imunização com anticorpos específicos para a beta amilóide reduzem o depósito de placas e conseqüentemente reduzem os sintomas associados à doença de alzheimer semelhantes nos humanos <sup>(47)</sup>.

Existem três hipóteses de imunização <sup>(47)</sup>, tal como se apresenta esquematizado na figura 16:

- a) Os anticorpos ligam-se diretamente aos péptidos de beta amiloide nas placas senis desestabilizando-as <sup>(47)</sup>;
- b) Os anticorpos específicos de beta amiloide ligam-se às placas senis estimulam a fagocitose através de células de microglia mediadas pelo recetor Fc <sup>(47)</sup> (Fc é a região específica do anticorpo- “heavy chain”- que interage com outras proteínas e células, tais como células de microglia);

- c) Os anticorpos não atravessam a barreira hematoencefálica e ligam-se à beta amiloide presente no plasma que leva a uma diminuição da porção livre gerando um efluxo do cérebro para o plasma de beta amiloide <sup>(47)</sup>.



**Figura 16:** a) Interação dos anticorpos anti-BA (anti-Beta amilóide) com a placa beta amilóide conduz à desestabilização desta; b) Células de microglia através do recetor Fc recolhessem a região Fc dos anticorpos anti-BA, levando à fagocitose da placa Beta amilóide; c) Anticorpos anti-BA ligam-se à Beta amilóide presente no sangue gerando o efluxo de beta amilóide do cérebro para o sangue.

(Figura baseada do artigo *Alzheimer's disease: is a vaccine possible?* Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24878604> <sup>(47)</sup>)

## 10. Resumo Terapêutica

Na tabela 2, encontra-se o resumo das terapêuticas disponíveis no tratamento da AD, embora algumas ainda se encontrem em fase de estudo. Nesta estão reunidos, o tipo de células utilizadas em cada abordagem e o principal mecanismo de ação, assim como as suas vantagens e desvantagens.

**Tabela 2: Resumo terapêutica**

Terapia	Terapia Celular	Terapia Génica	Terapia Farmacológica -Terapêutica Alvo-Fármaco	Terapia Não Farmacológica	Vacinas com Anticorpos Anti-Beta Amiloide	Anticorpos Monoclonais
<b>Tipo de Células</b>	Células estaminais do indivíduo.	PGC-1α, CD33	Inibidores dos receptores de glutamato (Memantina)		Anticorpos anti beta amiloide	Anticorpos monoclonais
<b>Mecanismos de ação</b>	Transplante de células estaminais neuronais do próprio doente para as zonas do cérebro mais lesadas potencia a atividade dos neurónios nesses locais melhorando o ambiente de doença; Desenvolvimento de "mini" cérebros de determinado doente com as características do seu cérebro e estudar a partir daí patologias como o Alzheimer.	PGC-1α, uma vez que este gene, quando no cérebro, pode ser neuro protetor devido ao seu efeito na transcrição de genes envolvidos na produção de AB; CD33 tem um papel importante na patogenicidade da AD, uma vez que regula através da microglia a clearance de beta amiloide.	Memantina antagoniza de forma não competitiva o receptor N-metil-Aspartato (NMDA);  Aumento da concentração de acetilcolina que compensa o decréscimo de neurotransmissores.	- Eliminar potenciais causadores de DA; - Evitar a progressão da doença; - Gestão das complicações da doença numa fase clínica.	3 hipóteses de imunização: a) Os anticorpos ligam-se diretamente aos péptidos de beta amiloide nas placas senis destabilizando-as; b) Os anticorpos específicos de beta amiloide ligam-se às placas senis e estimulam a fagocitose através de células de microglia mediadas pelo receptor Fc; c) Os anticorpos não atravessam a barreira hematoencefálica e ligam-se à beta amiloide presente no plasma que leva a uma diminuição da porção livre gerando um efluxo do cérebro para o plasma de beta amiloide.	Imunoterapia com anticorpos monoclonais que têm como alvo a beta amiloide.
<b>Modelos</b>	<i>Human Cortical Neural Stem Cells Expressing Insulin-Like Growth Factor-1: A Novel Cellular Therapy for Alzheimer's Disease;</i>  <i>3D brain Organoids derived from pluripotent stem cells: promising experimental models for brain development and neurodegenerativ Disorders</i>	<i>PPAR γ -coactivator-1 a gene transfer reduces neuronal loss and amyloid- β generation by reducing β -secretase in an Alzheimer's disease model;</i>  <i>Alzheimer's Disease Risk Gene CD33 Inhibits Microglial Uptake of Amyloid Beta.</i>	<i>Immunomodulation by memantine in therapy of Alzheimer's disease is mediated through inhibition of Kv1.3 channels and T cell responsiveness;</i> <i>Rivastigmine in the treatment of patients with Alzheimer's disease;</i> <i>Evaluating the cognitive effects of donepezil 23 mg / d in moderate and severe Alzheimer's disease: analysis of effects of baseline features on treatment response.</i>	<i>Global music approach to persons with dementia: evidence and practice.</i>  <i>Advances in the prevention of Alzheimer's disease and dementia.</i>	<i>Alzheimer's disease: is a vaccine possible?</i>	<i>Long-term safety and tolerability of bapineuzumab in patients with Alzheimer's disease in two phase 3 extension studies.</i>
<b>Vantagens</b>	Células estaminais visam compensar as perdas dos sistemas neuronais;	Diminuir a perda neuronal que ocorreria na ausência desse gene e, assim, atrasar os sintomas major da doença numa fase inicial de AD; A inibição de CD33 revelou aumentar a clearance de fragmentos de beta amiloide 42 em culturas de células de microglia; O alelo minor SNP s3865444 confere proteção contra a AD, pois está associado a reduções da expressão de CD33 e dos níveis de beta amiloide 42 num cérebro AD.	A Memantina é um fármaco clinicamente bem tolerado e tem mostrado ser eficaz no que diz respeito a melhorar alguns dos sintomas da DA;  Os Ach aumentam as concentrações de acetilcolina, que está relacionada com a memória e a capacidade cognitiva, atrasando assim ao máximo a progressão da doença.	Aumento da qualidade de vida.	Possibilidade de prevenção da doença.	Melhorias significativas nas atividades funcionais e cognitivas;
<b>Desvantagens</b>	Estudos ainda muito precoces.	PGC-1 α pode apenas evitar a posterior perda neuronal, mas não corrige a que já ocorreu anteriormente;  São raros os casos que se diagnosticam a Doença de Alzheimer sem a manifestação dos sintomas característicos da doença que só ocorrem numa fase pós perda neuronal, sendo difícil atuar com novas abordagens nesta fase.	Custo elevado dos tratamentos farmacológicos; Estes fármacos requerem um uso permanente; Controlo unicamente dos sintomas; Não visam curar ou reduzir a progressão da doença.	Não são efetivas quanto ao prognóstico da doença.	Tipo de estudo é testado em roedores que nas suas capacidades físicas e sociais se distanciam dos humanos.	Custos elevados; A necessidade de longa utilização põe limitações severas no uso generalizado destes compostos; Nem sempre oferecem os resultados esperados.
<b>Referências</b>	(22) (30) (40)	(31) (38)	(32) (25)	(33) (32) (21)	(32)	(32) (34)

## 11. Discussão

A doença de Alzheimer (AD) é a causa mais comum de demência e afeta progressivamente funções cognitivas, de aprendizagem e comportamentais <sup>(4)</sup>.

O grande problema da AD é o facto de a deteção da doença só ser possível após cerca de 15 anos de desenvolvimento da mesma, quando surgem os primeiros sintomas.

Então, como se pode despistar a doença na altura que começam a ocorrer as primeiras alterações neuronais? Esta e outras questões têm sido colocadas, porém sem muita previsão de resposta.

Até à data, a neuropatologia da doença não está bem definida, mas sabe-se que existe envolvimento de duas proteínas, a beta amilóide e a tau, sendo estas os principais biomarcadores da doença. O que não está bem definido é o que conduz a estas alterações, isto é, o que propicia a desregulação da beta amilóide e/ou o que origina a hiperfosforilação na tau.

Muito se tem discutido sobre esta temática e muitos são os artigos publicados sobre o tema com o intuito de elucidar a fisiopatologia da AD no seu todo e, posteriormente, desenhar estratégias que permitam contribuir para a prevenção do seu aparecimento e desenvolver fármacos que permitam tratar a doença.

O atraso no desenvolvimento de soluções adequadas é devido, em grande parte, à escassez de informação sobre os mecanismos de pré-formação da beta amilóide e da tau.

Seria interessante desenvolver-se, neste ponto, uma abordagem terapêutica que atuasse através da inibição da beta secretase, como por exemplo uma proteína anti-beta secretase, que bloqueasse no seu sítio ativo a sua ação, com vista a diminuir a formação dos fragmentos de beta amilóide.

No entanto a formação de beta amilóide pode estar envolvida com mutações na APP que melhoram a clivagem pela beta secretase e facilitam o mecanismo de formação das placas

senis. Tendo em conta esta informação, estudar geneticamente estas proteínas em indivíduos com casos de AD na família e despistar a possibilidade de vir a ter a doença devido a esta alteração seria uma mais valia na compreensão e tratamento desta doença.

Ainda relativamente ao processo proteolítico, existe a gama secretase que tem duas proteínas associadas: PSEN1 e PSEN2. Os estudos sobre a ação destas presenilinas são poucos, mas sabe-se que quando mutadas podem conduzir a risco de AD, pois alteram a taxa de formação dos fragmentos beta amilóide 42 e 40.

Em todas estas vertentes, muitos outros estudos são necessários para se definir certamente onde se pode atuar e qual a abordagem mais eficaz e rápida no tratamento da AD.

Compreendendo-se as alterações nas cinases que regulam a tau, uma possível abordagem passaria por desenvolver um inibidor da cinase alterada, de forma a inibir a hiperfosforilação da tau.

Um outro biomarcador que têm vindo a ser descrito é o APOE, uma vez que o alelo APOE 4 tem vindo a ser associado ao aumento do risco para o desenvolvimento da AD <sup>(25)</sup>.

Ao contrário de APOE 2, que confere proteção, o alelo APOE 4 demonstrou em diversos estudos <sup>(25)(24)(26)</sup>, não só em animais como em humanos que afeta de forma positiva a deposição de beta amilóide característica de AD, além de estar envolvido em situações inflamatórias e de perda neuronal.

Assim, é determinante estudar melhor a genética e patologia da AD, para que se testem novas terapêuticas em fases antecedentes à fase pré-clínica.

Antes de se discutir a terapêutica utilizada na AD, é importante referir que existem pilares de prevenção da doença que devem ser praticados antes de aparecimento da mesma, isto é, numa fase pré-clínica, na fase de manifestação da doença (fase clínica) e, na fase decorrente da doença. O objetivo da prevenção é oferecer qualidade de vida ao doente e

favorecer a terapêutica farmacológica, para que se consiga obter os melhores resultados possíveis, atrasando a progressão da doença.

A terapêutica de 1ª linha utilizada pelos doentes com AD visa o atraso da progressão da doença, com foco na melhoria do estado cognitivo e comportamental.

Neste trabalho foram abordados os fármacos inibidores da acetilcolinesterase, donepezil e rivastigmina, e o fármaco memantina, inibidora dos recetores de glutamato.

Os inibidores de acetilcolinesterase têm demonstrado benefícios na redução dos sintomas em doentes com AD média a moderada. Além dos benefícios cognitivos, funcionais e comportamentais verifica-se que estes fármacos reduzem a mortalidade e melhoram o estado de cognição até 2 anos <sup>(33)</sup>.

Por outro lado, os doentes que utilizam a memantina são normalmente mais idosos, com um maior grau de demência, mais disfuncionais e com maiores comorbilidades comparados com os utilizadores que só utilizam inibidores de acetilcolinesterases <sup>(33)</sup>.

Vários estudos referem melhorias nas capacidades intelectuais e no comportamento em doentes com o diagnóstico de AD tratados com inibidores da acetilcolinesterase e memantina, logo a partir dos primeiros seis meses de tratamento. Os autores sugerem que a associação destas duas classes de fármacos conduz a melhores resultados do que o seu uso isolado, pelo que é desejável como parte do tratamento.

Wattmo C et al. <sup>(37)</sup> refere que, no que toca a sobrevida, os doentes têm maior benefício se lhes forem administradas doses mais altas e durante o maior período de tempo possível. De facto, a evidência científica confirma que os inibidores da colinesterase, sobretudo o donepezilo e a rivastigmina, são eficazes, no período temporal de meses, em melhorar a sintomatologia dos doentes com AD.

Os estudos mostram também que a associação de memantina com os fármacos supracitados é benéfica, melhorando os resultados<sup>(37)</sup>, pelo que é uma terapêutica de combinação que deve ser tida em conta no tratamento destes doentes.

É de referir que nenhum tratamento novo é aprovado desde 2003<sup>(30)</sup> e uma vez que a maioria dos casos de AD são esporádicos, é urgente definir tratamentos que atuem na fase pré clínica<sup>(25)</sup>.

A cada dia que passa, mais estudos são realizados na área médica, farmacológica e das neurociências, com vista a obter resultados que permitam conduzir a uma resposta adequada para uma das maiores doenças do século 21.

Estão em desenvolvimento estratégias terapêuticas que num futuro próximo poderão possibilitar a cura da AD.

A terapia génica é uma área em grande desenvolvimento que procura através de ensaios, pesquisar e conhecer a neuropatologia da AD e travá-la.

O senão destes ensaios é que na sua grande maioria são testados em modelos animais, como roedores com AD. Neste trabalho, abordam-se dois estudos de terapia génica, que descrevem genes que estão envolvidos com a beta amiloide, ou inibindo a formação desta ou por outro lado potenciando. A limitação inerente a estes estudos é o facto de, como se referiu, serem realizados em roedores com AD, isto é, para a realização do ensaio, os animais já apresentam a doença. Por conseguinte, a neuropatologia da AD já está presente e já existe comprometimento neuronal.

Assim sendo, qualquer abordagem que passe pela inibição ou pelo contrário, pela estimulação de um gene que iniba acumulação e deposição de beta amiloide, só poderá impossibilitar a formação de nova beta amiloide e não interfere com a se formou à priori.

A terapia com células estaminais é uma área de pesquisa em grande desenvolvimento e com um grande potencial de tratamento para diversas doenças onde se inclui a AD.

Um estudo nesta área<sup>(46)</sup> defendeu que ao utilizar as capacidades das células estaminais podem desenvolver-se amostras de cérebros de determinado doente, com as características do seu cérebro, em laboratório, e estudar a partir daí patologias como Alzheimer e Parkinson, devido às alterações que surgem nos modelos que estão associados à doença de interesse<sup>(46)</sup>. Posto isto, uma possível abordagem terapêutica na DA seria a obtenção de células tronco de um dado doente e induzir-se a diferenciação destas em várias amostras de cérebro, de forma a testar diversos fármacos e identificar o/os que respondem melhor à doença no doente específico.

Por outro lado, o transplante de células estaminais do próprio doente tem sido bastante estudado. Um estudo mostrou resultados encorajadores, revelando melhorias cognitivas através do transplante de células estaminais do doente para zonas mais lesadas do seu cérebro<sup>(30)</sup>.

Assim o transplante de células estaminais neuronais oferece uma abordagem inovadora e potencialmente transformadora no tratamento de doenças neurodegenerativas. No entanto, a segurança de algumas terapias com células tem que ser necessariamente estabelecida por diversos estudos clínicos, e tem sido alvo de discussão<sup>(30)</sup>.

Até a data a tecnologia de terapia celular encontra-se apenas em fase de desenvolvimento e os avanços encontrados na literatura sugerem que é uma área de grande potencial para o tratamento direto e indireto da AD. A terapia com células estaminais tem, certamente, um futuro promissor como tratamento da AD<sup>(49)</sup>.

A imunização ativa da AD tem, também, vindo a ser cada vez mais uma possibilidade de abordagem terapêutica na prevenção da AD. A ideia é bastante inovadora, assente no facto de se produzir uma vacina que reduzisse o aparecimento da AD nas gerações futuras. No entanto, esta ideia não é assim tão linear, uma vez que, como foi referido ao longo do trabalho, ainda não é possível identificar o principal alvo fisiopatológico da AD, embora se tenha o conhecimento do papel da beta amiloide e da tau.

A limitação nesta abordagem prende-se com o conhecimento pouco aprofundado e seguro da neuropatologia da doença. Assim, será difícil prever onde atuar primeiro e qual a especificidade do anticorpo mais viável para impedir o aparecimento da doença. Para além disso, muitas outras questões relacionadas com a segurança e viabilidade têm sido alvo de discussão.

A AD é uma doença de uma atualidade importante, tendo-se vindo a dedicar progressivamente mais trabalho científico em prol do seu profundo conhecimento. Na verdade, o impacto desta doença na população é enorme, pelo que a possibilidade de poder oferecer um tratamento eficaz aos doentes é uma motivação para que se trabalhe cada vez mais esta temática. Os estudos nestas áreas são futuristas e têm uma rampa de progressão grande no que diz respeito à descoberta não só da completa fisiopatologia da AD, bem como na descoberta do melhor fármaco para impedir o aparecimento e a progressão desta doença.

## 12. Conclusão

A Doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa para a qual não existe cura, e os prognósticos para a encontrar são ainda sombrios. Esta doença só é diagnosticada na fase clínica, quando aparecem os primeiros sintomas. Sabe-se que a fase pré-clínica começa a ocorrer pelo menos 10 anos antes da AD se manifestar.

A neuropatologia desta doença está em constante estudo e assenta em dois biomarcadores principais, beta amiloide e tau, podendo estar outros biomarcadores envolvidos, como é o caso do gene APOE.

Sabe-se que os biomarcadores beta amiloide e tau são responsáveis, respetivamente, pela deposição de placas senis nos neurónios e pela perda de comunicação neuronal devido a tranças neurofibrilares, causando neurodegenerescência neuronal e morte celular.

A terapêutica de 1ª linha utilizada pertence a duas classes farmacológicas: inibidores acetilcolinesterase (donepezilo e rivastigmina) e inibidores glutamato (memantina).

Estes fármacos têm revelado melhorias nos sintomas de doentes com AD, manifestando-se os efeitos logo nos primeiros 6 meses de tratamento. Além disso, a terapia combinada de rivastigmina ou donepezil + memantina demonstrou melhoras mais acentuadas e, por isso, deve ser uma combinação a ter em conta pelos clínicos que acompanham os doentes com AD.

As áreas de intervenção mais inovadoras, como a terapia génica ou celular e a imunização ativa, têm demonstrado potencial e boa capacidade de progresso. No entanto, apresentam limitações pelo facto de os ensaios serem realizados em roedores, uma vez que se distanciam dos humanos nas suas capacidades físicas e sociais. Além disso, os modelos animais já apresentam AD, isto é, a patologia da doença já está presente. São necessários mais estudos em humanos, principalmente em doentes com AD ou em doentes que apresentem genes que possam desencadear a doença.

Para o futuro, será interessante conseguir modelos que permitam antever o aparecimento da fase pré-clínica da AD e perceber o que conduz às alterações conhecidas da fisiopatologia da doença. Adicionalmente, importa estudar abordagens terapêuticas que permitam prevenir e tratar a mesma.

Em conclusão, a AD é um dos principais focos de investigação nos dias de hoje e a cada dia surgem novos ensaios, novos estudos e indicações sobre novas estratégias terapêuticas potenciais, com o objetivo comum de se descobrir o que origina a doença, como ela se desenvolve, e quais as abordagens mais promissoras para prevenir e tratar uma das doenças neurodegenerativas do século 21, com maior impacto económico, social e humano.

## 13. Bibliografia

1. Carvalho C, Cardoso S, Correia SC, Santos RX, Santos MS, Baldeiras I, et al. Metabolic alterations induced by sucrose intake and Alzheimer's disease promote similar brain mitochondrial abnormalities. *Diabetes*. 2012;
2. Karch CM, Cruchaga C, Goate AM. Alzheimer's disease genetics: From the bench to the clinic. *Neuron*. 2014;
3. Ferreira SH de JM. Terapêutica farmacológica na Doença de Alzheimer : progressos e esperanças futuras Terapêutica farmacológica na Doença de Alzheimer : progressos e esperanças futuras. 2012.
4. Santana I, Farinha F, Freitas S, Rodrigues V, Carvalho Á. Estimativa da prevalência da demência e da doença de Alzheimer em Portugal. *Acta Med Port*. 2015;7:182–8.
5. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. Demencia una prioridad De salud publica [Internet]. 2013. Available from: [apps.who.int/iris/bitstream/10665/98377/1/9789275318256\\_spa.pdf?ua=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/10665/98377/1/9789275318256_spa.pdf?ua=1)
6. Diógenes, Denise de França; Saraiva, Francisca Rutiane Sampaio; Oliveira M de B et al. REVISÃO DA LITERATURA ACERCA DA CONDUTA TERAPÊUTICA NA DOENÇA DE ALZHEIMER. Vol. 2. 2016.
7. Associação Portuguesa de Familiares e Amigos de doentes de Alzheimer [Internet]. [cited 2017 Jul 20]. Available from: [http://alzheimerportugal.org/pt/news\\_text-78-11-121-5-da-populacao-acima-dos-65-anos-sofre-de-demencia](http://alzheimerportugal.org/pt/news_text-78-11-121-5-da-populacao-acima-dos-65-anos-sofre-de-demencia)
8. Alexander ML, B E. Patient education: Dementia (including Alzheimer disease) (Beyond the Basics) [Internet]. [cited 2017 Aug 4]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/dementia-including-alzheimer-disease-beyond-the-basics>

9. Pereira PMC de M. Doença de Alzheimer Perspetivas de tratamento. 2013.
10. Domise M, Didier S, Marinangeli C, Zhao H, Chandakkar P, Buée L, et al. AMP-activated protein kinase modulates tau phosphorylation and tau pathology in vivo. *Sci Rep*. 2016;
11. Chen M. The maze of APP processing in Alzheimer's disease: where did we go wrong in reasoning? *Front Cell Neurosci*. 2015;9(May).
12. Späni C, Suter T, Derungs R et al. Reduced  $\beta$ -amyloid pathology in an APP transgenic mouse model of Alzheimer's disease lacking functional B and T cells. *Acta Neuropathol Commun*. 2015;
13. Fricker M, Neher JJ, Zhao J, Théry C, Aviva M. MFG-E8 mediates primary phagocytosis of viable neurons during neuroinflammation. *J Neurosci*. 2012;32(8):2657–66.
14. Goate A, Chartier-Harlin M, Mullan M et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*. 1991;704–6.
15. HA R de S, A J, C W et al. Cell-specific expression of beta-amyloid precursor protein isoform mRNAs and proteins in neurons and astrocytes. *Mol Brain Res*. 1997;147–56.
16. Thordardottir S, Kinhult Ståhlbom A, Almkvist O, Thonberg H, Eriksson M, Zetterberg H, et al. The effects of different familial Alzheimer's disease mutations on APP processing in vivo. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. 2017;9(1):9. Available from: <http://alzres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13195-017-0234-1>
17. Chávez-Gutiérrez L, Bammens L, Benilova I, Vandersteen A, Benurwar M, Borgers M, et al. The mechanism of  $\gamma$ -Secretase dysfunction in familial Alzheimer disease. *EMBO J* [Internet]. 2012;31(10):2261–74. Available from: <http://emboj.embopress.org/cgi/doi/10.1038/emboj.2012.79>
18. Medeiros R, Baglietto-vargas D, Laferla FM. The Role of Tau in Alzheimer's Disease and Related Disorders. *CNS Neurosci Ther*. 2014;17(5):514–24.

19. Tokutake T, Kasuga K, Yajima R, Sekine Y, Tezuka T, Nishizawa M, et al. Hyperphosphorylation of Tau Induced by Naturally Secreted Amyloid-beta at Nanomolar Concentrations Is Modulated by Insulin-dependent Akt-GSK3 Signaling Pathway. *Biol Chem.* 2012;287(42):35222–33.
20. Wang L, Brier MR, Snyder AZ, Jewell B, Fagan AM, Xiong C, et al. Cerebrospinal fluid amyloid  $\beta$ 42, phosphorylated tau181, and resting state functional connectivity. *JAMA Neurol.* 2014;70(10):1242–8.
21. Schultz AP, Johnson KA, Sperling RA, Dorene M. Biomarker Validation of a Decline in Semantic Processing in Preclinical Alzheimer's Disease. *Neuropsychology.* 2017;30(5):624–30.
22. Rani P, Krishnan S, Rani CC. Study on Analysis of Peripheral Biomarkers for Alzheimer's Disease Diagnosis. *Front Neurol.* 2017;8(July):1–8.
23. Ojopi EPB, Bertoncini AB, Neto ED. Apolipoproteína E e a doença de Alzheimer. *31(11):26–33.*
24. Cruchaga C, Kauwe JSK, Nowotny P et al. Cerebrospinal fluid APOE levels: an endophenotype for genetic studies for Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet.* 2012;21(20):4558–71.
25. Castellano JM, Kim J, Stewart FR, Jiang H, Demattos RB, Patterson BW, et al. Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid- $\beta$  peptide clearance. *Sci Transl Med.* 2012;3(89).
26. Zhu Y, Nwabuisi-Heath E, Dumanis SB, Tai L, Yu C. APOE genotype alters glial activation and loss of synaptic markers in mice. *Glia.* 2013;60(4):559–69.
27. Solomon A, Mangialasche F, Richard E et al. Advances in the prevention of Alzheimer's disease and dementia. *J Inter Med.* 2015;275(3):229–50.
28. Org H. Preventing Alzheimer's Disease.

29. Xu Z, Xiao N, Chen Y, Huang H, Marshall C, Gao J, et al. Deletion of aquaporin-4 in APP/PS1 mice exacerbates brain A $\beta$  accumulation and memory deficits. *Mol Neurodegener.* 2015;
30. McGinley LM, Sims E, Lunn JS, Kashlan ON, Chen KS, Bruno ES, et al. Human Cortical Neural Stem Cells Expressing Insulin-Like Growth Factor-I: A Novel Cellular Therapy for Alzheimer's Disease. *Stem Cells Transl Med [Internet].* 2016 Mar [cited 2017 Feb 14];5:379–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26744412>
31. Müller T. Rivastigmine in the treatment of patients with Alzheimer ' s disease. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2007;3(2):211–8.
32. Sabbagh M, Cummings J, Christensen D, Doody R, Farlow M, Liu L, et al. Evaluating the cognitive effects of donepezil 23 mg / d in moderate and severe Alzheimer ' s disease : analysis of effects of baseline features on treatment response. *BMC Geriatr [Internet].* 2013;13(1):1. Available from: BMC Geriatrics
33. Hager K, Baseman AS, Nye JS, Brashear HR, Han J, Sano M, et al. Effect of concomitant use of memantine on mortality and efficacy outcomes of galantamine-treated patients with Alzheimer's disease : post-hoc analysis of a randomized placebo-controlled study. *Alzheimers Res Ther.* 2016;1–10.
34. Ghezzi L, Galimberti D. Disease-modifying drugs in Alzheimer ' s disease. *Drug Des Devel Ther.* 2013;1471–9.
35. Bading H. Therapeutic targeting of the pathological triad of extrasynaptic NMDA receptor signaling in neurodegenerations. *JEM.* 2017;569–78.
36. Lowinus T, Bose T, Busse S, Busse M, Reinhold D, Schraven B, et al. Immunomodulation by memantine in therapy of Alzheimer's disease is mediated through inhibition of Kv1.3 channels and T cell responsiveness. *Oncotarget.* 2016;7(33).
37. Gareri, Pietro, Putignano, Daria, Castagna A et al. Retrospective Study on the Benefits of Combined Memantine and cholinEsterase inhibitor treatMent in AGEd Patients affected

- with Alzheimer's Disease: The MEMAGE Study. *J Alzheimer's Dis* . 2014;41(2):633–40.
38. Cumbo, Eduardo | Ligorí LD. Differential Effects of Current Specific Treatments on Behavioral and Psychological Symptoms in Patients with Alzheimer's Disease: A 12-Month, Randomized, Open-Label Trial. *J Alzheimer's Dis* vol 39, no 3, pp 477-485, 2014.
  39. Wattmo C, Londos E, Minthon L. Longitudinal Associations between Survival in Alzheimer's Disease and Cholinesterase Inhibitor Use, Progression, and Community-Based Services. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2015;297–310.
  40. Katsouri L, Lim YM, Al. BK et. PPAR  $\gamma$  -coactivator-1  $\alpha$  gene transfer reduces neuronal loss and amyloid-  $\beta$  generation by reducing  $\beta$  -secretase in an Alzheimer ' s disease model. *PNAS*. 2016;113(43):1–6.
  41. B. Sheng, X. Wang, B. Su et al. Impaired mitochondrial biogenesis contributes to mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 120 (2012), pp 419-429.
  42. Griciuc A, Serrano-pozo A, Parrado AR, Lesinski AN, Asselin CN, Mullin K, et al. Article Alzheimer ' s Disease Risk Gene CD33 Inhibits Microglial Uptake of Amyloid Beta. *Neuron* [Internet]. 2013;78(4):631–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2013.04.014>
  43. Mount NM, Ward SJ, Kefalas P, Hyllner J, Mount NM. Cell-based therapy technology classifications and translational challenges. 2015;
  44. Abdel-Salam O. Stem cell therapy for Alzheimer's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2011 Jun;10(4) . :459–85.
  45. Tang J. How close is the stem cell cure to the Alzheimer ' s disease. *Neural Regen Res*. 2012;7(1):66–71.
  46. Lee C, Bendriem RM, Wu WW, Shen R. 3D brain Organoids derived from pluripotent stem cells : promising experimental models for brain development and neurodegenerative disorders. 2017;1–12.

47. Alves RPS, Yang MJ, Batista MT, Ferreira LCS. Alzheimer's disease: is a vaccine possible? *Brazilian J Med Biol Res = Rev Bras Pesqui medicas e Biol* [Internet]. 2014 Jun [cited 2017 Feb 14];47(6):438–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24878604>
48. Rosset MB, Lui G, Dansokho C, Chaigneau T, Dorothée G. Vaccine-induced A  $\beta$  -specific CD8 + T cells do not trigger autoimmune neuroinflammation in a murine model of Alzheimer ' s disease. *J Neuroinflammation* [Internet]. 2015;1–14. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4448209/pdf/12974\\_2015\\_Article\\_317.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4448209/pdf/12974_2015_Article_317.pdf)
49. Lee JH, Oh I, Lim HK. Stem Cell Therapy : A Prospective Treatment for Alzheimer's Disease. *Psychiatry Investig.* 2016;583–9.