

**Universidade de Lisboa**  
**Faculdade de Farmácia**



**O PAPEL DAS CÉLULAS DE GLIA NAS DOENÇAS  
NEURODEGENERATIVAS**

**Joana Ferreira Branco**

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2020



**Universidade de Lisboa**  
**Faculdade de Farmácia**



**O PAPEL DAS CÉLULAS DE GLIA NAS DOENÇAS  
NEURODEGENERATIVAS**

**Joana Ferreira Branco**

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas  
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de  
Farmácia**

**Orientador:** Professor Auxiliar Rui Fernando Marques da Silva

2020



## Resumo

As doenças neurodegenerativas são condições incuráveis e debilitantes com grande impacto ao nível da sociedade, afetando mais de 1000 milhões de pessoas em todo o mundo. A principal característica patológica destas doenças é representada pela morte neuronal, resultante de uma complexa cascata de eventos que leva a degeneração seletiva de uma população de neurónios. Apesar dos mecanismos que levam à neurodegeneração não estarem totalmente compreendidos, estudos realizados ao longo das últimas décadas mostraram o forte envolvimento das células de glia em várias doenças neurodegenerativas, levando a considerar o papel que estas possam ter nas patologias destas doenças.

Os astrócitos e a microglia são elementos celulares chave para o bom funcionamento das atividades neuronais no SNC, desempenhando uma extensa variedade de funções tanto em condições fisiológicas como em situações de lesão ou doença. Os astrócitos, a maior população de células de glia, são responsáveis pela manutenção da homeostasia do microambiente cerebral e da barreira hematoencefálica, com papel chave na regulação iónica e de neurotransmissores, sendo responsáveis pela libertação de fatores neutróficos e pelo suporte metabólico e energético dos neurónios. A microglia representa a população de células imunocompetentes do SNC, são responsáveis pela vigilância do microambiente cerebral, pela remoção e manutenção de sinapses e pela resposta inflamatória a lesões ou estímulos agressores.

Apesar de ainda não serem conhecidos os mecanismos envolvidos nos processos neurodegenerativos, novos estudos sobre a patologia de várias doenças neurodegenerativas, permitiram relacionar a ocorrência da disfunção ou ganho de toxicidade destas células com a progressão da degeneração e conseqüente morte dos neurónios, levando a considerar o papel das células de glia nas doenças neurodegenerativas. Nesta monografia, será abordado o papel dos astrócitos e da microglia na fisiologia do SNC e o papel que estas células em condições patológicas de doenças neurodegenerativas, tendo como referências o envolvimento na doença de Parkinson e na doença de Alzheimer.

**Palavras-chave:** astrócitos; microglia; neurodegeneração; doença de Parkinson; doença de Alzheimer

## **Abstract**

Neurodegenerative diseases are incurable and debilitating conditions with a great impact on society, affecting more than 1,000 million people worldwide. The main pathological characteristic of these diseases is represented by neuronal death, resulting from a complex cascade of events that leads to the selective degeneration of a population of neurons. Although the mechanisms that lead to neurodegeneration are not fully understood, studies carried out over the past decades have shown the strong involvement of glial cells in various neurodegenerative diseases, highlighting the role that they may have in such pathologies.

Astrocytes and microglia are key cellular elements for the proper functioning of neuronal activities in the CNS, performing an extensive variety of functions both in physiological conditions and in situations of injury or illness. Astrocytes, the largest population of glial cells, are responsible for maintaining the homeostasis of the brain microenvironment and blood-brain barrier, with a key role in ionic and neurotransmitters regulation, being responsible for the release of neurotrophic factors and the metabolic and energetic support of neurons. Microglia represents the population of immunocompetent cells of the CNS responsible for the surveillance of the cerebral microenvironment, for the removal and maintenance of synapses, and for the inflammatory response to injuries or aggressive stimuli.

Despite the mechanisms involved in neurodegenerative processes are not well understood, new studies of the pathology of several neurodegenerative diseases shown between the occurrence of dysfunction or toxicity gain in these cells to be linked to the progression of degeneration and the consequent death of neurons, leading to consider the role of glial cells in neurodegenerative diseases. In this work, we discuss the role of astrocytes and microglia in the CNS physiology, and also in pathological conditions of neurodegenerative diseases, with a focus on the involvement in Parkinson's disease and Alzheimer's disease.

**Key-words:** astrocytes; microglia; neurodegeneration; Parkinson's disease; Alzheimer's disease

## **Lista de Abreviaturas**

**ApoE** - Apolipoproteína E

**BHE** – Barreira hematoencefálica

**DA** – Doença de Alzheimer

**DP** – Doença de Parkinson

**FAs** – Ácidos gordos (fatty acid)

**GFAP** - Glial Acídica Fibrilar (*Glial fibrillary acidic protein*)

**GABA** - Ácido gama-aminobutírico

**LDs** - Gotículas lipídicas (*lipid droplets*)

**MHC II** - (*Major histocompatibility complex II*)

**Nrf2** - nuclear factor erythroid 2-related factor

**RNS** – Espécies reativas de nitrogénio

**ROS** – Espécies reativas de oxigénio

**SNC** – Sistema Nervoso Central

**SNcp** – *Substantia Nigra pars compacto*

## Índice

<b>Resumo</b> .....	- 5 -
<b>Abstract</b> .....	- 6 -
<b>1. Introdução</b> .....	- 10 -
<b>2. Objetivos</b> .....	- 11 -
<b>3. Materiais e métodos</b> .....	- 11 -
<b>4. Astrócitos</b> .....	- 11 -
<b>4.1. Características estruturais e morfológicas dos astrócitos:</b> .....	- 11 -
<b>4.2. Funções Homeostática dos Astrócitos:</b> .....	- 12 -
<b>4.2.1. Papel no metabolismo e produção de energia:</b> .....	- 13 -
<b>4.2.2. Modelação da função sináptica e as sinapses Tripartidas</b> .....	- 14 -
<b>4.2.3. Proteção do SNC contra o stresse oxidativo:</b> .....	- 14 -
<b>4.3. Astroglíose reativa e o seu papel em condições de lesão</b> .....	- 15 -
<b>5. Microglia</b> .....	- 16 -
<b>5.1. Características estruturais e morfológicas da microglia:</b> .....	- 16 -
<b>5.2. O papel da microglia na homeostasia e neuroprotecção do SNC</b> .....	- 17 -
<b>5.3. Ativação da Microglia e o seu papel no SNC</b> .....	- 18 -
<b>5.3.1. Microglia e neuroinflamação</b> .....	- 19 -
<b>6. Doença de Parkinson</b> .....	- 20 -
<b>6.1. Papel dos astrócitos na doença de Parkinson</b> .....	- 20 -
<b>6.1.1. Envolvimento do stress oxidativo mediado pelos astrócitos na patogénese da doença</b> - 21 -	
<b>6.2. Papel da microglia na doença de Parkinson</b> .....	- 22 -
<b>7. Doença de Alzheimer</b> .....	- 23 -
<b>7.1. Papel dos astrócitos na doença de Alzheimer</b> .....	- 24 -
<b>7.2. Papel da microglia na doença de Alzheimer</b> .....	- 25 -
<b>8. Conclusão e Perspetivas futuras</b> .....	- 27 -
<b>Bibliografia:</b> .....	- 28 -



## **Índice de imagens**

<b>Fig. 4.1 – Astrócitos Humanos.....</b>	<b>12</b>
<b>Fig. 4.2 – Papel dos astrócitos na regulação da homeostasia do SNC.....</b>	<b>13</b>
<b>Fig. 4.3 – Esquema do modelo da sinapse tripartida.....</b>	<b>14</b>
<b>Fig. 4.4 – Astroglíose reativa durante os processos neuroinflamatórios e os diferentes fenótipos possíveis e as suas principais funções.....</b>	<b>16</b>
<b>Fig. 5.1 – Desenvolvimento embrionário e papel fisiológico da microglia no desenvolvimento, homeostasia e vigilância do SNC.....</b>	<b>18</b>
<b>Fig. 5.2 – Esquematização dos dois fenótipos mais considerados da ativação de microglia e as suas funções no SNC.....</b>	<b>19</b>
<b>Fig. 6.1 – Relação entre a expressão de genes e a sua interação o nível da disfunção dos astrócitos ao nível da patogénese da DP.....</b>	<b>21</b>
<b>Fig. 7.1 – Imagens de microscopia de fluorescência de astrócitos e microglia em redor de placas de A<math>\beta</math> em cérebros de ratinhos transgênicos para a APP.....</b>	<b>24</b>

## 1. Introdução

A complexa organização do Sistema Nervoso Central (SNC) encontra-se assente num sistema heterogéneo onde se estabelece uma rede imensa de interações entre neurónios, glia e outros elementos celulares e não celulares (1). Estima-se que a rede celular do SNC conta com um total de  $10^{12}$  células (2), que durante vários anos acreditou-se ser constituído por um rácio de neurónios: glia correspondente a 1:10, ou seja,  $10^{11}$  de células sejam neurónios, sendo as restantes  $9 \times 10^{11}$  apontadas como glia (2). Com a descoberta e desenvolvimento de novos métodos de contagem celular, veio a verificar-se um rácio neurónios: glia semelhante a 1:1, sendo a população de células de glia não muito superior a 50% da população celular total (3).

Inicialmente conhecidas como “Nervenkitt” ou cola dos neurónios, as células de glia passaram de ter um papel menor, para integrarem as mais variadas e complexas funções no desenvolvimento, funcionamento e homeostasia do SN, bem como a sua implicadas nas vias patológicas de algumas doenças neurodegenerativas (4).

Dentro do SNC são identificadas 4 populações distintas de células de glia: Astrócitos, Microglia, Oligodendrócitos, e células NG2 (células progenitoras de Oligodendrócitos). Os astrócitos, muitas vezes denominados por astroglia, representam a maior população de células de glia (2), constituindo o principal regulador da função neuronal e da homeostasia do parênquima cerebral. Têm como principais funções a regulação sináptica, controlando os níveis de neurotransmissores (recaptação do glutamato), o suporte estrutural da rede neuronal e da barreira hematoencefálica, o suporte metabólico, a modulação da plasticidade e da excitabilidade neuronal. A microglia consiste na primeira linha de imunidade inata do SNC contra agressores patógenos (4), tendo um papel crucial na mediação da resposta neuroinflamatória (5), bem como no controlo e manutenção do sistema de sinapses durante o neurodesenvolvimento (4). Reconhece-se atualmente, que as principais funções cerebrais resultam da atividade morfo-funcional da rede neurónios-glia, pelo que será de esperar que uma alteração num dos lados da equação poderá contribuir para o desequilíbrio reversível ou não reversível das funções cerebrais, característicos de mecanismos de neurodegeneração (5).

As doenças neurodegenerativas, apesar da sua complexidade e da ainda falta de conhecimento sobre os seus mecanismos patológicos, são desordens caracterizadas pela degeneração de uma ou mais populações de neurónios de uma determinada região do sistema nervoso, (1). As doenças neurodegenerativas podem ser classificadas de acordo com a sua apresentação clínica, em demências ou parkinsonismo e ainda em doenças desmielinizantes (1). No primeiro grupo destacam-se a doença de Alzheimer e de Parkinson, onde existe a perda progressiva de uma população específica de neurónios (6). No segundo grupo, destaca-se a Esclerose Lateral Amiotrófica, com a destruição dos neurónios motores e das bainhas de mielina como principal fator patológico da doença (6). Em algumas destas doenças, a presença de processos inflamatórios, os níveis elevados de substâncias oxidativas e a disfunção mitocondrial, têm se mostrado como passos cruciais para o desencadear dos processos neurodegenerativos dessas doenças e contribuir para a perda neuronal (6).

Apesar ainda não serem conhecidos os mecanismos fisiopatológicos das doença de Parkinson e da doença de Alzheimer, fortes evidencias sugerem a presença de alterações morfo-funcionais nos astrócitos e na microglia nestas doenças, levando a considerar o papel destas células ao nível dos próprios mecanismos neurodegenerativos (1).

## **2. Objetivos**

Esta monografia tem por objetivo principal esclarecer o papel que as células de glia, particularmente os astrócitos e a microglia, desempenham em doenças neurodegenerativas. Para cumprir o objetivo, serão abordadas as funções fisiológicas dos astrócitos e microglia no SNC e, por fim, será apresentado o conhecimento atual sobre as doenças de Parkinson e Alzheimer, e o potencial envolvimento das células de glia nestas patologias.

## **3. Materiais e métodos**

Foi realizada a revisão e leitura de artigos científicos e artigos científicos de revisão, publicados entre os anos 2009 e 2020, que continham as seguintes palavras-chave: células de glia, astrócitos, microglia, ativação microglial, astrócitos reativos, neurodegeneração, neuroinflamação, stresse oxidativo, doença de Parkinson, doença de Alzheimer. As citações contidas nesses mesmos artigos foram igualmente objeto de pesquisa. A pesquisa foi efetuada através de sites científicos na internet (PubMed® e Mendeley®).

## **4. Astrócitos**

Os astrócitos representam a maior e mais abundante população de células de glia no Sistema Nervoso Central (SNC) sendo por isso os tipos de células de glia mais bem estudados e das quais compreendem um maior conhecimento científico sobre os seus aspetos morfológicos e fisiológicos (4).

Para além das funções desempenhadas de forma a manter a dinâmica funcional e estrutural do SNC, os astrócitos também tem um papel importante em quadros de lesão ou de patologias (7).

### **4.1. Características estruturais e morfológicas dos astrócitos:**

A astroglia apresenta uma heterogeneidade populacional, não só em termos de perfil morfológico e estrutural, como também em termos do perfil de transcrição e fenótipo que expressam, o que se pensa poder explicar a variedade de funções desempenhadas pelos astrócitos (8). Estes são caracterizados pela elevada expressão da proteína Glial Acídica Fibrilar

(*Glial fibrillary acidic protein* - GFAP) (8). A GFAP é uma proteína dos filamentos intermédios III do citoesqueleto, e que se encontra exclusivamente ao nível dos astrócitos no SNC, e em algumas células de Schwann não-mielinizantes na periferia (9).

O perfil de expressão de GFAP não é homogêneo em toda a população de astrócitos (8), pelo que é possível distinguir duas grandes subpopulações de astrócitos (Fig. 4.1), os astrócitos protoplasmáticos e os astrócitos fibrosos (10). Os astrócitos fibrosos apresentam um conteúdo em GFAP mais elevado e localizam-se principalmente na matéria branca com numerosos processos celulares (10), pelo que se assume que estejam na base do suporte metabólico e da unidade neuro vascular (8). Os protoplasmáticos são a forma estrutural mais abundante do SNC, principalmente distribuídos na matéria cinzenta onde estabelecem uma vasta rede neuroglial, estando envolvidos na modelação e integridade de sinapses, contactando com a rede vascular (8).

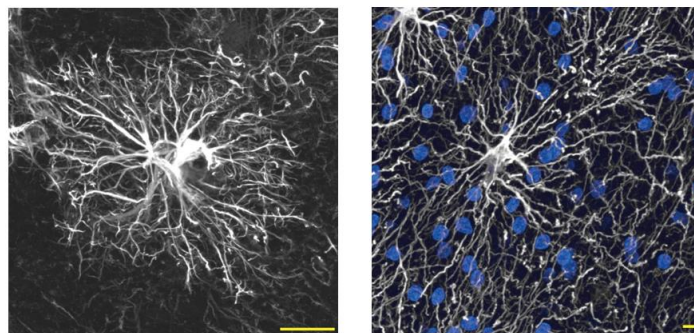


Figura 4.1: Astrócitos humanos: lado esquerdo – astrócito protoplasmático, à escala de 20 $\mu$ m; lado direito – astrócitos fibrosos, à escala de 10 $\mu$ m; GFAP correspondente ao branco. Adaptado (11)

#### 4.2. Funções Homeostática dos Astrócitos:

Os astrócitos, devido à sua vasta e extensa rede de prolongamentos, preenchem e ocupam posições de elevada importância para a intra- e intercomunicação entre outros astrócitos e os neurónios, microglia, entre outras células (10), e dessa forma, possibilitam a existência das condições necessárias para o desenvolvimento e manutenção dos circuitos neurais e normal atividade sináptica e neuronal (8).

Os astrócitos contribuem para a manutenção e homeostasia do SNC (4) (Fig. 4.2), através do estabelecimento de um sistema homeostático a cinco níveis: A nível molecular, que integra a homeostasia de iões, do pH, transporte de água e dos neurotransmissores, tais como o glutamato e o GABA; a nível da rede neuronal, integrando todos os processos relacionados com a neurogênese e desenvolvimento neuronal até à manutenção e plasticidade das sinapses; a nível metabólico, sendo responsável tanto pelo suporte energético como regulando a corrente sanguínea da microcirculação; a nível do suporte estrutural e funcional da Barreira Hematoencefálica; e a nível sistémico, pela sua ação de quimiorreceptores, por exemplo ao nível do cálcio, da glucose e do oxigénio (12).

Devido à diversidade de funções e à sua grande importância na manutenção da própria função e saúde do sistema nervoso central, percebe-se que qualquer alteração ou mesmo disfunção dos astrócitos pode comprometer a eficiência e sobrevivência dos neurónios e da função neuronal (13).

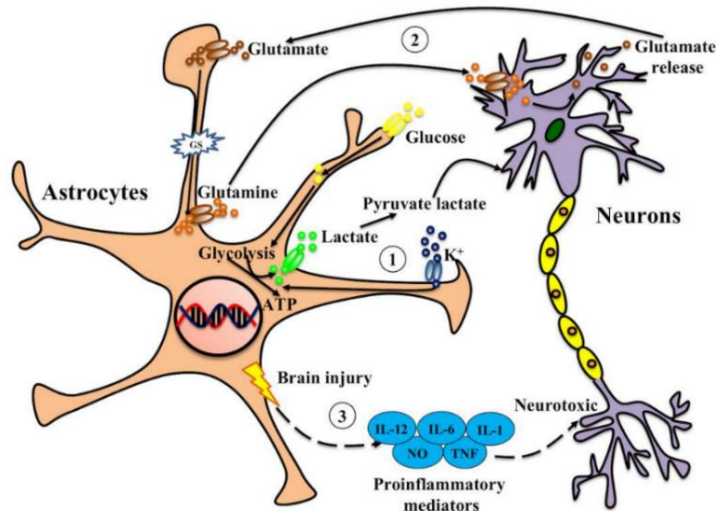


Figura 4.2: Papel dos astrócitos na regulação da homeostasia do SNC. Adaptado de Li et al. 2019

#### 4.2.1. Papel no metabolismo e produção de energia:

Os neurónios e os astrócitos cooperam como unidade metabólica de energia no cérebro humano (14). Enquanto os neurónios gastam uma quantidade significativa de ATP para a produção e secreção de neurotransmissores, os astrócitos fornecem os substratos e antioxidantes para esse efeito, sendo o metabolismo e armazenamento de lípidos, ou ácidos gordos, e o metabolismo da glucose, as principais contribuições (14).

Os ácidos gordos (FAs) são constituintes das membranas celulares e encontram-se armazenados sob forma de gotículas lipídicas (*lipid droplets* - LDs) enquanto triglicéridos (14). Esta forma de armazenamento permite a libertação de ácidos gordos livres do citoplasma, tóxico para a membrana mitocondrial, e também o fornecimento de FAs à mitocôndria como fonte alternativa de energia em períodos de depleção nutricional (14). Os astrócitos apresentam maior capacidade neste tipo de metabolismo, enquanto os neurónios são pouco efetivos, o que os torna particularmente sensíveis à formação de espécies reativas de oxigénio (ROS) por peroxidação dos FAs (15).

A acumulação de lípidos em neurónios hiperativos é tóxica, não só porque estes são suscetíveis à peroxidação de lípidos como na disfunção das mitocôndrias, levando à produção de ROS e ao stress oxidativo (15). A ApoE é componente de HDL-like particles no sistema nervoso necessária para a acumulação astrocítica nos LDs em resposta ao stress oxidativo (14). O polimorfismo ApoE4, fator de risco na doença de Alzheimer, está associado à redução da ligação aos lípidos e capacidade de secreção reduzida, levando à acumulação de ácidos gordos no citoplasma e consequentemente stress oxidativo, aumento dos ROS e lipotoxicidade (14).

#### 4.2.2. Modelação da função sináptica e as sinapses Tripartidas

Os astrócitos têm uma organização estrutural no parênquima cerebral que lhes permite estar em contacto com as sinapses, através dos seus processos citoplasmáticos, e assim contribuir para a formação, função e plasticidade das sinapses (16). A organização e posicionamento dos astrócitos relativamente às sinapses é caracterizado pelo termo sinapse tripartida (Fig. 4.3), constituída pelos prolongamentos dos astrócitos, pelo neurónio pré-sináptico e pelo pós-sináptico (16).

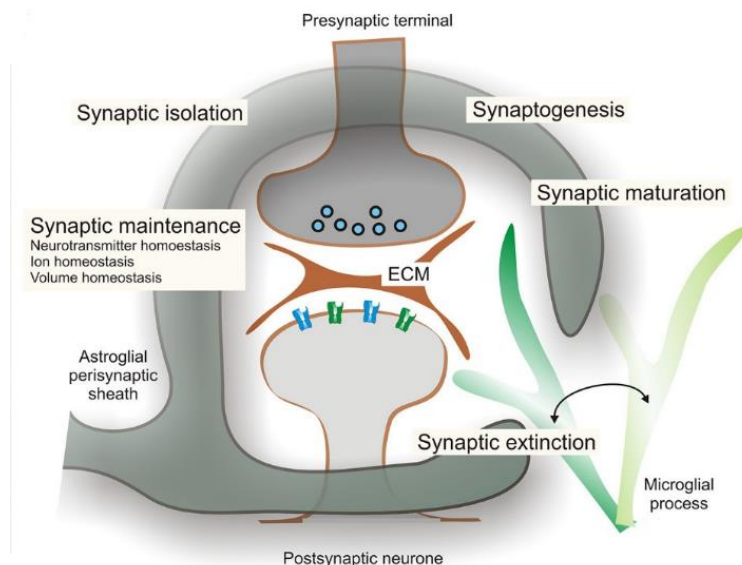


Figura 4.3: Esquema do modelo da sinapse tripartida (ECM: matriz extracelular). Os intervenientes celulares são o terminal pré-sináptico, o compartimento pós-sináptico, os processos peri-sinápticos de um astrócito. Autores também refere o papel da microglia ao nível da manutenção destas estruturas. Adaptado Verkhratsky e Nedergaard 2018

O modelo da sinapse tripartida foca-se na rápida comunicação bidirecional entre os neurónios e a glial, permitindo aos astrócitos a regulação da conectividade e da transmissão sináptica (12). Estas estruturas permitem aos astrócitos controlar e modelar a rede neuronal, manter a homeostasia iónica na fenda sináptica, controlar os níveis de neurotransmissores, estão fortemente envolvidos no metabolismo de glutamato e de GABA (12).

#### 4.2.3. Proteção do SNC contra o stresse oxidativo:

Nos últimos anos, o stresse oxidativo tem sido reconhecido como um fator associado ao próprio processo de envelhecimento e à progressão de múltiplas doenças neurodegenerativas (17). As espécies reativas de oxigénio (ROS) e de nitrogénio (RNS) são produzidas normalmente pelas células através do cadeia de transferência de eletrões da mitocôndria ou através de reações redox associadas ao sistema de homeostasia celular (18). A elevada performance metabólica do SNC, torna-o suscetível ao excesso de produção destas espécies (19), bem como a uma eventual disfunção mitocondrial (17). Esta associação de eventos pode levar à perda da capacidade antioxidante com consequências diretas na atividade sináptica e levar a disfunções cognitivas profundas (17).

Os astrócitos são peças chave na manutenção da homeostasia e, estudos recentes levam a considerar o papel crucial na regulação e prevenção do stress oxidativo (19). Os astrócitos contribuem para o sistema redox do SNC ao produzirem vários agentes antioxidantes, removendo aminoácidos excitatórios associados ao metabolismo do Glutamato, e pela sua atividade em alguns sistemas antioxidantes como o Nrf2, enquanto papel neuroprotetor (19).

Apesar do efeito neuroprotetor, em determinadas condições, os astrócitos podem ter um papel inverso no sistema oxidativo, podendo mesmo contribuir para o excesso de produção de ROS e RNS, particularmente com a disfunção dos sistemas redox dos astrócitos (19)

#### **4.3. Astroglíose reativa e o seu papel em condições de lesão**

Os astrócitos são fatores chave na resposta inflamatória do SNC, tendo um papel crucial na neuroproteção e regeneração de tecido cerebral (7). Esta resposta consiste na ativação para astrócitos reativos, ou astroglíose reativa (Fig. 4.4), que consiste na ocorrência de várias alterações ao nível do perfil morfológico e molecular (20).

As alterações moleculares abrangem um espectro significativo de genes, desde proteínas estruturais a modeladores sinápticos e inflamatórios (20), e está dependente de vários fatores, tais como a severidade da lesão, o tipo de patogénico, e do estímulo de mediadores moleculares (21). A principal alteração morfológica observada é a hipertrofia dos processos e corpo celular, relacionando-se com o aumento da expressão de GFAP (20).

O impacto da astroglíose reativa em condição de doença é complexo: os astrócitos reativos podem ser tanto benéficos como lesivos para as restantes células, podendo resolver ou agravar a condição inicial (20). Quando ocorre a astroglíose, vários genes são ampliados ou silenciados e, em resultado destas combinações, foram distinguidos dois fenótipos principais de astrócitos reativos (10). Os astrócitos reativos A1 estão relacionados com um perfil de expressão pro-inflamatório, com marcada secreção de IL-1 $\alpha$ , TNF e C1q (envolvido na cascata clássica do complemento), e de neurotoxinas (10). Os astrócitos reativos A2 apresentam um perfil de expressão neuroprotetor, destacando-se o BDNF, THBS1 e THBS2 (10).

Apesar desta dualidade, a ativação dos astrócitos potencia o seu papel protetor contra o stress oxidativo, ao conseguir identificar ROS, diminuindo a duração da inflamação ativada pela microglia (7) e, ainda, auxiliam na reparação da BHE após as lesões e na regeneração axonal (21).

A formação de uma cicatriz, apesar de benéfica ao nível de travar o avanço da infeção ou a infiltração de células inflamatórias (20), termina com a reorganização permanente dos tecidos, que impedem a regeneração axonal, levando à perda de sinapses e por fim de neurónios. Este nível de astroglíose está normalmente associada à existência de processos neurodegenerativos (21).

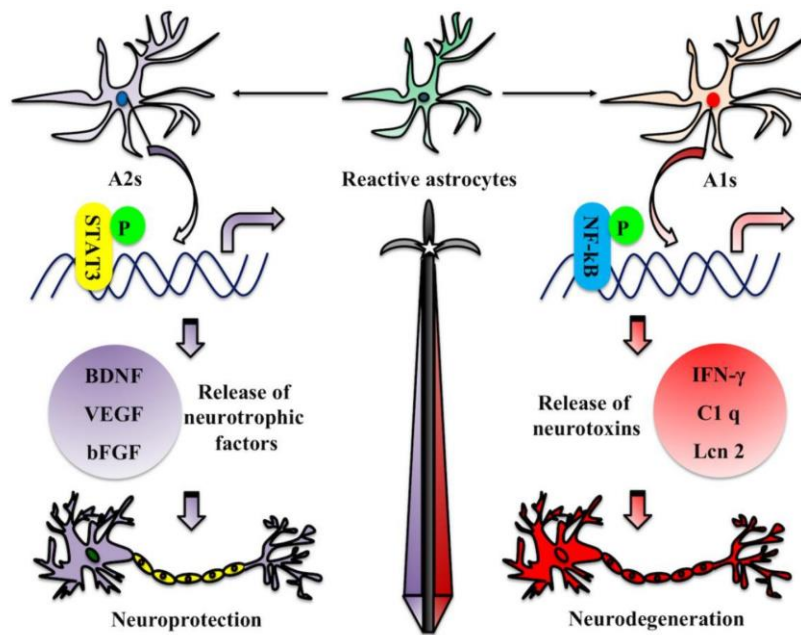


Figura 4.4: Astroglíose reativa durante os processos neuroinflamatório e os diferentes fenótipos possíveis e as suas principais funções. Adaptado Li et al. 2019

## 5. Microglia

A microglia, representa a população de células de glia imunocompetentes mielóides do SNC (4), e são a primeira linha de resposta na defesa numa rede que se distribui por todo o parênquima cerebral (22). Apesar de restritas ao tecido nervoso, tem origem em células progenitoras do saco vitelino que migraram para o cérebro durante o desenvolvimento embrionário (4).

Pela sua origem mieloide, a microglia tem sido implicada em vários processos essenciais no SNC, dos quais se destaca a mediação do processo inflamatório, através da ativação do sistema imune inato e ainda um papel ao nível da clearance e manutenção de sinapses (23). Apesar destas conhecidas funções, estudos recentes têm mostrado sinais significativos do papel ativo da microglia nos complexos processos de neurodesenvolvimento (23).

### 5.1. Características estruturais e morfológicas da microglia:

A população de microglia no cérebro é bastante heterogénea, observando-se diferentes morfologias com padrões de expressão diferentes dependendo da função que estas desempenham (24).

A atividade da microglia pode alterar de um estado mais vigilante, para um estado ativo na ocorrência por exemplo de uma lesão cerebral ou na presença de patologias neurodegenerativas



(24). Apesar da grande diversidade e níveis intermédios de ativação, podemos distinguir dois morfologias distintas: a microglia vigilante, ou *resting microglia* e a microglia ativada (24).

Em condições consideradas fisiológicas, ou *resting microglia*, as células apresentam corpos celulares pequenos, com pouco citoplasma dos quais partem numerosos, longos e finos processos celulares que lhes conferem uma aparência ramificada (25). Estas ramificações apresentam ainda alguma mobilidade que lhes permite aceder a todo o parênquima cerebral, executando a sua função de vigilante ativo (7). A este nível, a microglia expressa níveis baixos de MHC II (*Major histocompatibility complex II*) e de outros recetores de superfície ligados à apresentação de antígenos. Expressam à superfície certos recetores, como o CD200 e CX3CR1, que estão relacionados com a inativação do estado inflamatório (24).

Em condições patológicas, em que haja a ativação de processos inflamatórios, a microglia altera o seu perfil de expressão e a sua morfologia para o seu estado ativo (24). Apresentam uma morfologia ameboide com processos celulares pequenos ou mesmo inexistentes (24). A este nível de ativação, expressam à superfície elevados níveis de MHC II, e dependendo do perfil da ativação (24), podendo adquirir funções pro-inflamatórias (M1) ou anti-inflamatórias (M2) (25).

## **5.2. O papel da microglia na homeostasia e neuroprotecção do SNC**

A microglia constitui um componente celular essencial para o desenvolvimento e manutenção do SNC, desde uma fase inicial, durante o desenvolvimento embrionário, até ao estado adulto e em situações de doença ou de lesão (22).

Para além do seu papel crucial no sistema imune inato do SNC, estudos mais recentes têm revelado que as propriedades fagocíticas e secretoras da microglia tem um papel chave em vários processos de neurodesenvolvimento (23). Estão envolvidas em processos que determinam e regulam a morte celular dos neurónios, promovem a formação de neurites, de sinapses e da fasciculação axonal, e fazem a manutenção do numero de sinapses de forma a manter a homeostasia e o funcionamento dos circuitos neurais (23) (Fig. 5.1.).

A microglia está implicada no processo de neurogénese e maturação dos precursores em neurónios, bem como das sinapses que estes estabelecem (22). Durante a neurogénese fetal, ocorre uma produção de neurónios superior à necessária para o normal desenvolvimento do córtex cerebral (22). A microglia limita o número de neurónios ao fagocitar as células precursoras dos neurónios que não estabelecem conexões ativas, quando a neurogénese está quase completa (22).

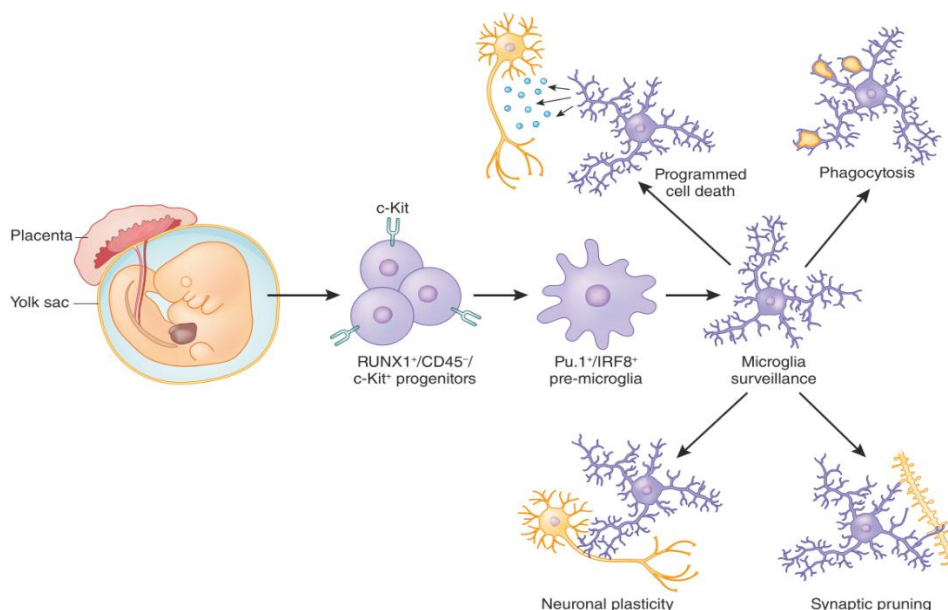


Figura 5.1: Desenvolvimento embrionário e papel fisiológico da microglia no desenvolvimento, homeostasia e vigilância do SNC. Adaptada Salter, Michael W., e Beth Stevens. 2017

A capacidade de reorganização das sinapses, ocorre devido à existência de receptores na microglia que permitem detetar correntes excitatórias (22). Neste processo de maturação/eliminação de sinapses, foi identificada a participação da via clássica do complemento, ou seja, a via de sinalização C3-CR3 (receptor C3), que leva à ativação de uma cascata de eventos que termina com a apoptose dos neurónios (26). Outra molécula identificada nesta função é a Fractalina (CX3CL1), e a ativação do receptor CX3CR1 (26).

### 5.3. Ativação da Microglia e o seu papel no SNC

Tal como já foi referido, a microglia constitui uma população de células dinâmica que, em função das suas características, tem capacidade de responder a uma grande variedade de estímulos externos e internos, alterando a sua própria morfologia e expressão genética, com ou sem proliferação (26). A capacidade de alteração de resposta pela microglia e a determinação do fenótipo está relacionada com a ligação de moléculas aos receptores de reconhecimento de padrões, ou *pattern recognition receptors* (PRRs), que tem afinidade tanto para agentes patógenos (PAMPs) como para reconhecer danos celulares (DAMPs) (27).

À semelhança do que acontece com os macrófagos, também para a microglia foi atribuída uma classificação binária para os diferentes fenótipos de ativação (Fig. 5.2.): O fenótipo M1, relacionado com processos inflamatórios, e o fenótipo M2, relacionado com processos anti-inflamatórios (25).

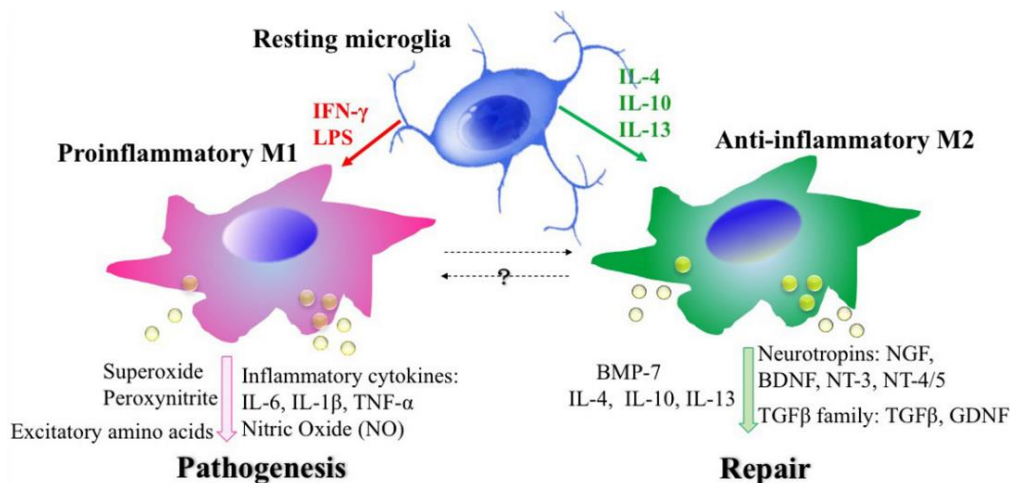


Figura 5.2: Esquemática dos dois fenótipos mais considerados da ativação de microglia e as suas funções no SNC. Adaptado Fan Y, Xie L, Chung CY 2017

A ativação da microglia M1, leva à produção e libertação de níveis elevados de ROS e NRS, citocinas pro-inflamatórias, tais como o TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral alfa), interleucinas, IL-1 $\beta$  e IL-12 (27). Já no estado de ativação M2, a microglia produz e liberta fatores tróficos, tais como o fator de crescimento tumoral (TGF- $\beta$ ) e ainda fatores neurotróficos, que conferem neuroproteção (27). Apesar desta classificação geral, há que ter em consideração que o estado de ativação da microglia não é tão linear quanto o atribuído a apenas estes dois fenótipos, existindo outros fenótipos intermédios, tendo em conta a vasta distribuição pelo SNC e as variações morfológicas e funcionais da microglia (27).

### 5.3.1. Microglia e neuroinflamação

O processo neuroinflamatório compreende uma complexa rede de eventos com o objetivo de eliminar a ameaça e auxiliar a reparação e proteção do SNC (28).

A ativação da microglia, principalmente em microglia M1 e consequente produção de citocinas e quimiocinas pro-inflamatórias, é um dos pontos chave para a propagação deste processo (29). A microglia M1 apresenta níveis elevados de expressão de citocinas pro-inflamatórias, tais como o IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , STAT3, IL-6, IFN- $\gamma$ , e de quimiocinas, relacionadas com a indução da migração de microglia para as regiões onde existe lesão por interação com recetores CCR2 e CXCR (30).

Para além da função secretora da microglia M1 de propagação da inflamação, esta também é responsável pela ativação das células periféricas, particularmente os linfócitos T, promovendo a sua infiltração no SNC (29).

Para além desta função, assume-se que a neuroinflamação tenha um papel importante ao nível da formação de memória a longo prazo e de aprendizagem, tendo sido identificada a presença de citocinas pro-inflamatórias nestes processos (5).

Apesar da neuroinflamação dita como aguda ser benéfica para o sistema nervoso central, quando esta se estende por um longo período, a cronicidade deste processo contribui para danos permanentes no tecido nervoso (30).

## 6. Doença de Parkinson

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum, tendo sido documentado um aumento significativo da sua prevalência nas últimas três décadas. Só em Portugal, estima-se a prevalência da doença, numa população acima dos 50 anos, em 180/100000 habitantes, sendo mais prevalente nos homens do que nas mulheres (31). À escala mundial, em 2016 os dados indicavam que cerca de 6.1 milhões de pessoas estavam diagnosticadas com a doença (31).

A DP integra o grupo de doenças causadas por sinucleinopatias, com a prevalência de degeneração dos neurónios motores no sistema dopaminérgico da *Substancia Nigra pars compacta* (SNpc) (31). Recentemente foram identificadas outras regiões do cérebro que sofrem perca dos neurónios dopaminérgicos, tais como o Locus Coeruleus, a amígdala e o hipotálamo (27).

A causa fisiopatológica mais reconhecida da doença é a acumulação e agregação da proteína  $\alpha$ -sinucleína com disfunção nos neurónios do SNpc (27). Estes agregados, também denominados Corpos de Lewy, acabam por se dispersar para outros neurónios e interferem com o tráfego intracelular, levando a disfunção neuronal, neurodegeneração e por fim morte dos neurónios dopaminérgicos (27). A degeneração mais acentuada dos neurónios dopaminérgicos na SNpc pode estar relacionada com uma maior suscetibilidade desta região em termos do microambiente e da própria histologia (27).

Para além destes dados, estudos em que foram realizadas análises de expressão de genes, revelaram aproximadamente 20 genes que podem ter um papel significativo na doença, como o gene da  $\alpha$ -sinucleína, e outros genes expressos por células de glia, das quais se destacam os astrócitos e as células da microglia (7). Deste modo, pensa-se ser possível estabelecer a ligação entre a expressão destes genes com a disfunção das atividades astrocítica e microglial que podem levar à progressão da neurodegeneração na doença (7).

A neuroinflamação e a existência de elevados níveis de fatores pro-inflamatórios são achados comuns nesta patologia e pensa-se que estejam na base da progressão do processo de neurodegeneração que ocorre nesta doença (32).

### 6.1. Papel dos astrócitos na doença de Parkinson

A disfunção da biologia dos astrócitos e o seu envolvimento na patogénese da doença de Parkinson tem adquirido maior relevância nos últimos anos (13). Foram identificados vários genes associados à doença com papel em funções fisiológicas dos astrócitos (32), principalmente ao nível da resposta inflamatória, da função mitocondrial e lisossomal e ainda com a homeostasia dos lípidos (13) (Fig. 6.1).

A disfunção mitocondrial é um fator de risco já conhecido da doença de Parkinson, devido às suas consequências em termos do aumento da produção de ROS e da alteração do metabolismo da glucose (7). A *parkina*, PINK1, DJ-1 e o LRRK2, são genes relacionados a mutações reconhecidas para a doença de Parkinson com implicações particulares ao nível do metabolismo

da glucose e função astrocítica mitocondrial, estando alguns deles ligados à falha de mecanismos de neuroprotecção contra o stress oxidativo (7).

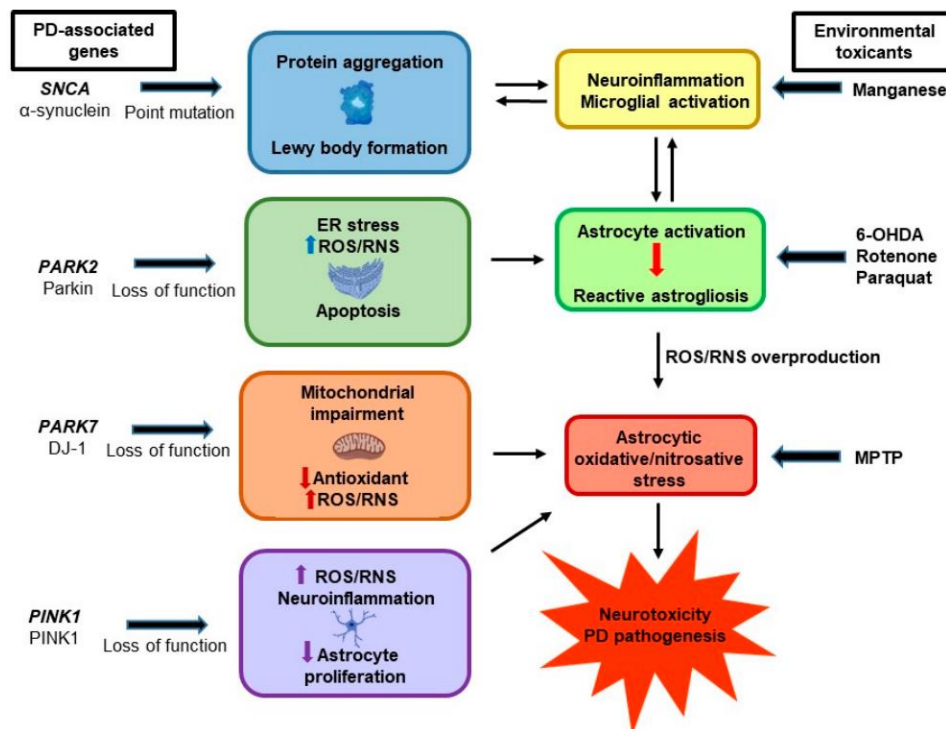


Figura 6.1: Relação entre a expressão de genes e a sua interação ao nível da disfunção dos astrócitos ao nível da patogénese da DP. Adaptado Rizor et al. 2019

A astrogliose reativa também parece contribuir para a patogénese da doença (32). Vários estudos mostraram que a presença de citocinas e quimiocinas produzidas pela microglia ativada, tais como o TNF- $\alpha$  e a IL-1 $\beta$ , induzem a astrogliose e as alterações morfológicas e bioquímicas associadas (32). Nestas condições, astrócitos produzem citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias e outros mediadores neuroinflamatórios, tais como o IFN- $\gamma$  e o TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ , que iniciam a apoptose neuronal por via ativação da caspase 3 (32). A  $\alpha$ -sinucleína tem um papel fulcral ao nível da iniciação e regulação da ativação dos astrócitos na resposta inflamatória (13). Apesar de a sua toxicidade estar associada à formação de corpos de Lewy nos neurónios, novas evidências sugerem que a  $\alpha$ -sinucleína é incorporada pelos astrócitos, tendo sido observada em agregados no citoplasma de astrócitos da SNpc (13).

### 6.1.1. Envolvimento do stress oxidativo mediado pelos astrócitos na patogénese da doença

A identificação de algumas formas genéticas da DP permitiu relacionar alguns fatores que podem explicar formas não familiares da doença (18). As mutações nos genes PINK1, parkina, DJ-1 e LRRK2 estão associadas a perturbações da função mitocondrial nos astrócitos, e com consequências diretas no aumento dos níveis de ROS e RNS (32). A própria estrutura do SNpc torna-a vulnerável ao stress oxidativo (18). A utilização de dopamina (DA) como

neurotransmissores pelos neurónios dopaminérgicos torna-os mais suscetíveis a danos desta natureza, dada à maior possibilidade de produção de produtos oxidativos oriundos do próprio metabolismo da DA (1), com especial destaque para o papel dos astrócitos a este nível (32).

O metabolismo da DA pode, de facto estar envolvido na contribuição dos astrócitos para o stress oxidativo (32). O transporte vesicular e armazenamento da DA encontra-se diminuído no cérebro de doentes com Parkinson, levando ao aumento do seu catabolismo e conseqüentemente ao aumento de produção de ROS e os níveis de cálcio intracelular, que, em conjunto, resultam na ativação dos astrócitos (32).

Os astrócitos também são responsáveis pela produção de GSH, um potente agente antioxidante (7). Estudos mostraram que a parkina esta envolvida na regulação dos níveis de GSH nos astrócitos, pelo que se pensa que a sua diminuição na doença de Parkinson esteja envolvida na diminuição da capacidade antioxidante dos astrócitos (7). Ao nível dos astrócitos, DJ-1 contribui diretamente como antioxidante, contribuindo para a produção de H<sub>2</sub>S, um antioxidante mitocondrial, e ainda para a expressão de fatores de crescimento como o GDNF e BDNF, importantes para a sobrevivência neuronal (7). A deficiência de expressão da DJ-1, característica de alguns casos de Parkinson, leva a diminuição dos níveis de fatores antioxidantes produzidos pelos astrócitos, que se relaciona com o aumento de ROS no cérebro destes doentes (7).

## **6.2. Papel da microglia na doença de Parkinson**

Para além da degeneração do sistema de neurónios dopaminérgicos na SNpc e da deposição intracelular de  $\alpha$ -sinucleína, a neuroinflamação tem sido descrita em vários estudos efetuados ao nível de modelos da DP, tendo sido documentada uma interação bastante significativa da microglia neste processo (27). A presença de microglia ativada no mesencéfalo parece estar relacionada com a elevada suscetibilidade desta região na doença de Parkinson, e pela elevada densidade de microglia na SNpc (33). Ao nível da SNpc, onde a perda de neurónios dopaminérgicos é notória, tem se detetado níveis elevados de vários fatores pro-inflamatórios, tais como o TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , ROS e RNS, e ainda proteína  $\alpha$ -sinucleína, no meio extracelular, que se pensa ser um forte ativador da resposta microglial e exacerbar a resposta inflamatória (27).

Um dos principais fatores associados com a ativação microglial é o MHCII (major histocompatibility complex II) (27). O MHCII, ou, na realidade, a expressão de HLA apresenta níveis muito baixos em condições normais e esta relacionado com o sistema de apresentação de antigénios nas células mieloides (33). Na doença de Parkinson, verifica-se o aumento dos níveis de MHCII, estando maioritariamente associado a neurónios com corpos de Lewy, neurónios danificados ou neurites (27). Estudos modelos animais da doença de Parkinson, mostraram que a depleção da microglia leva à redução dos níveis de várias citocinas e agentes pro-inflamatórios o que atenua a destruição dos neurónios dopaminérgicos (27).

Segundo alguns estudos, a ativação da microglia no mesencéfalo tem sido observada em estádios precoces da doença, estando não só relacionada com a morte celular como com a própria patogenicidade da  $\alpha$ -sinucleína (33). A  $\alpha$ -sinucleína é um fator chave para a ativação da microglia, funcionando como um mediador pro-inflamatório (7). Esta proteína é excretada

pelos neurónios através um mecanismo dependente do cálcio e da despolarização neuronal, sendo um passo essencial para a compreensão da resposta microglial (33). Por um lado, a microglia possui recetores que lhe conferem a capacidade de detetar a variação da atividade dos neurónios, levando à acumulação da microglia junto dos neurónios afetados; por outro lado, a  $\alpha$ -sinucleína faz ativar a microglia (33). A microglia possui recetores *pattern recognition* (PRRs) que se ligam à  $\alpha$ -sinucleína, dos quais se destacam o TLR4 e o TLR2, que estão relacionados com a resposta fagocitária, proporcionando um efeito benéfico na clearance de  $\alpha$ -sinucleína, ou levar ao aumento da expressão de citocinas e quimiocinas pro-inflamatórias na microglia (27). Os processos inflamatórios identificados para a doença de Parkinson ocorrem principalmente ao nível das vias da fator nuclear  $\kappa\beta$  (NF $\kappa\beta$ ) e da *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) (27). Ambas estas vias encontram-se amplificadas em modelos animais da doença e estão relacionadas com a degeneração dos neurónios dopaminérgicos (27).

À semelhança do que ocorre para os astrócitos, vários genes presentes e com consequências para a patologia de Parkinson parecem estar envolvidos na disfunção da microglia (7). A DJ-1 tem um efeito anti-inflamatório sobre a STAT1 e o p38 MAPK, e regular os níveis de ROS ao nível celular, quer promovendo a sua eliminação ou estimulando a expressão de enzimas antioxidantes (7). O gene da LRRK2 tem uma função reguladora da função de vigilância da microglia, ao interagir com diferentes tipos de proteínas de actina, responsáveis pela mobilidade da microglia (7). Mutações ao nível deste gene limitam a resposta da microglia aos locais de infeção, promovendo a extensão dos anos e possibilitando a progressão da doença (7).

Outra função importante da microglia ao nível da doença de Parkinson ocorre não ao nível da SNpc, mas ao nível de uma outra estrutura, o Locus Cereleus, onde se tem verificado a degeneração dos neurónios noradrenérgicos em fases iniciais da doença (27). A degeneração destes neurónios mostrou atividade significativa ao nível da degeneração dos neurónios dopaminérgicos pela modelação da ativação microglial no mesencéfalo, com efeito no aumento d expressão de citocinas pro-inflamatórias, diminuição do nível de fatores neutróficos e danos no sistema anti-inflamatório da SNpc (34). Pensa-se que este efeito sobre a SNpc se deve a atividade supressora da noradrenalina na resposta inflamatória microglial, que nesta patologia em específico, se torna deficiente devido à destruição dos neurónios noradrenergicos (27).

## 7. Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum de demência, caracterizada pela disfunção progressiva das capacidades cognitivas, especialmente a perda de memória e raciocínio, sendo frequentemente acompanhada de distúrbios comportamentais (25).

A patologia da doença está associada à deposição extracelular de placas de  $\beta$ -amiloide, e à anormal acumulação intraneuronal de proteína tau hiperfosforilada, sobre a forma de neurofibrillary tangles (NFTs), cujos filamentos se acumulam em neurites distróficas. (27). Adicionalmente, verifica-se uma gliose generalizada, da microglia e dos astrócitos reativos, junto dos locais de acumulação das placas de  $\beta$ -amiloide (20) (Fig. 7.1).

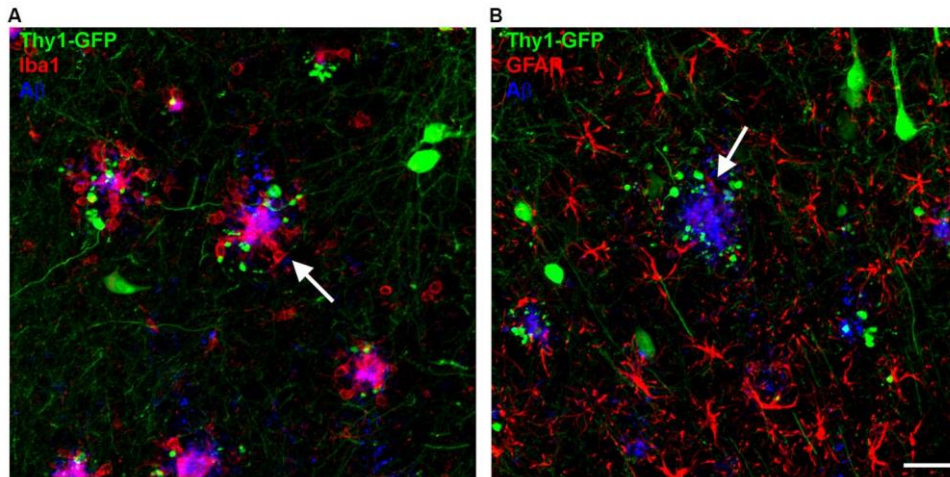


Figura 7.1: Imagens de microscopia de fluorescência de astrócitos e microglia em redor de placas de  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ) em cérebros de ratinhos transgênicos para a APP. Imagem A- vermelho – microglia; verde – neurónios; azul – placas de  $A\beta$ . Imagem B - vermelho – astrócitos; verde – neurónios; azul – placas de  $A\beta$ . Adaptado Ziegler-Waldkirch S, Meyer-Luehmann 2018

Uma das hipóteses mais aceites para a patogénese da doença consiste na da cascata amiloide (20). Nesta hipótese, a agregação de  $\beta$ -amiloide faz ativar uma cascata de reações que estão envolvidas na formação de NFTs, morte neuronal, neuroinflamação e gliose (20). Como suporte a esta hipótese, foram identificadas várias mutações autossómicas dominantes (20), ao nível da proteína precursora amiloide (APP), e da presenilina 1 (PSEN1) ou presenilina 2 (PSEN2) (27). Estas mutações encontram-se associadas a uma pequena percentagem dos casos da doença, correspondendo a casos de Alzheimer familiar (27).

Qualquer que seja a forma de Alzheimer observada, considera-se que a acumulação de  $\beta$ -amiloide esta envolvida na complexa patogenicidade da doença (35). Estudos recentes têm relacionado esta acumulação com a neuroinflamação e papel que esta tem na progressão da doença, visto terem sido identificados níveis elevados de citocinas pro-inflamatórias em cérebros *post-mortem* de doentes com Alzheimer (20). Os péptidos de  $\beta$ -amiloide foram identificados como ativadores da resposta inflamatória, ou seja, tem capacidade para modelar a atividade da microglia e dos astrócitos durante a resposta inflamatória, e conseqüentemente, exacerbar o processo neurodegenerativo (20).

### 7.1. Papel dos astrócitos na doença de Alzheimer

O papel dos astrócitos nos processos patológicos da DA tem sido alvo de vários estudos ao longo dos últimos anos (35). A acumulação de péptido  $\beta$ -amiloide em placas extracelulares é um fator chave para a ativação do estado de neuroinflamação e astrogliose (20). A deposição destas placas está associada à presença de astrócitos nas suas proximidades, observando-se em vários estudos uma profunda astrogliose em redor das placas com características semelhantes às encontradas em cicatrizes gliais (35), verificando-se um aumento dos níveis de expressão de GFAP e S100 $\beta$  nestes locais, tendo sido identificada uma relação entre o aumento do número de astrócitos reativos e o declínio cognitivo (10).

A astrogliose induzida pela acumulação de  $\beta$ -amiloide parece estar envolvida em mecanismos redox e é caracterizada pelas alterações fundamentais ao nível da função dos astrócitos, tendo



um impacto significativo ao nível da sinalização do cálcio (fundamental para a manutenção da rede neuroglial), produção de gliotransmissores, funcionamento da unidade neuro vascular, performance das mitocôndrias e defesa contra substâncias oxidativas (ROS) (25). Estudos realizados em modelos de ratinho para a DA, mostraram a relação entre a deposição de  $\beta$ -amiloide, a disfunção da sinalização do cálcio e a libertação de gliotransmissores, o que se pensa contribuir para um défice neuronal nas fases iniciais da doença (10).

A disfunção mitocondrial dos astrócitos na DA pode estar associada às mutações dos genes das proteínas PSEN1 e PSEN2, que se encontram localizadas no reticulo endoplasmático (RE) ao nível das MAMs (*mitochondrial associated membranas*) (36). A observação destas mutações coincide com o aumento dos níveis de cálcio  $Ca^{2+}$  e com a estimulação da respiração mitocondrial, que contribui para o aumento da geração de ROS (36).

Os astrócitos reativos produzem e libertam várias citocinas pro-inflamatórias, tais como o IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e o TNF- $\alpha$ , tendo sido já identificadas em doentes com a doença e em modelos animais, sugerindo o envolvimento dos astrócitos a este nível (20). Para além do efeito pro-inflamatório, estudos realizados em astrócito *in vitro*, mostraram o envolvimento de várias citocinas na regulação da APP e da BACE1, sugerindo a contribuição dos astrócitos para a produção de  $\beta$ -amiloide (20).

A toxicidade da tau também é um fator a ter em conta quando falamos da disfunção dos astrócitos, estando esta associada a formação de agregados no citoplasma dos astrócitos, perturbação do citoesqueleto e alteração da transcrição de gene (25). A tau interfere diretamente com o transporte e metabolismo do glutamato (excitotoxicidade) e com a regulação da BHE (25). Vários estudos mostraram o envolvimento dos astrócitos na evolução da deposição dos NFTs, tendo-se observado a relação entre o aumento do níveis de astrócitos ativados no hipocampo de doentes de Alzheimer e a formação e o numero de NFTs, sugerindo o papel dos astrócitos a este nível (35).

## **7.2. Papel da microglia na doença de Alzheimer**

A neuroinflamação, em resultado da acumulação de  $\beta$ -amiloide na região do hipocampo, tem sido compreendida tanto como uma causa ou como uma consequência da progressão da neurodegeneração na DA (25), o que concorda com vários resultados experimentais em que se verifica que os processos inflamatórios podem contribuir para a perda neuronal e cognitiva, tal como o envolvimento de polimorfismos em alguma citocinas (35). De facto, o sistema imune inato tem-se provado fortemente envolvido na patogénese da doença, existindo dados genéticos que demonstram o papel da ativação da microglia na DA (27). A doença de Alzheimer pode ser vista como um distúrbio no balanço entre as funções pro-inflamatórias e as funções de clearance da microglia (25), ou seja, como o aumento da velocidade de deterioração da função microglial (37).

A existência de uma variante alélica da TREM2 é apontada como um fator de aumento de risco para a DA (27). Este recetor de superfície é expresso exclusivamente pela microglia no SNC, associado à promoção da fagocitose, proliferação e sobrevivência da microglia (27). Em alguns casos da doença, observa-se a mutação ou deleção deste recetor, observando-se a diminuição do perfil fagocitário e inflamatório, e a acumulação de  $\beta$ -amiloide (35). Por outro

lado, estudos em ratinhos que avaliam o envolvimento da tau com a TREM2 na patologia da DA mostraram resultados contraditórios, sendo necessária uma análise mais profunda sobre este tópico (27). Outro gene relacionado com a doença de alzheimer é o do recetor Cx3cr1 microglial (27). Este está envolvido na migração e regulação da atividade neurónio-microglia; a sua deficiente expressão em modelos da doença, está relacionada com o aumento da ativação microglial e o aumento da acumulação de tau hiperfosforilada (27).

As células da microglia são as primeiras a serem recrutadas aos locais de lesão e a desencadear o processo inflamatório que já foi apresentado (35). Em modelos animais para a DA foi demonstrado que a microglia se acumula nos locais de deposição das placas  $\beta$ -amiloide (35), levando a concluir a existência de interações físicas entre os péptidos de amiloide e a microglia a partir de recetores PRRs, particularmente a família TLRs (toll-like receptors), o CD14 e o CD36 (27). A ativação destes recetores pelo  $\beta$ -amiloide e a APP, apresenta uma dualidade de ações: por um lado está relacionada com a atividade fagocitária da microglia, essencial para a clearance e degradação da placas de  $\beta$ -amiloide; por outro, leva ao aumento da expressão de mediadores inflamatórios incluindo a oxido nítrico sintase (iNOS), TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6, exacerbando a neuroinflamação e promovendo a perda neuronal (35).

A perda neuronal é uma consequência da patologia da doença, relacionada com a perda cognitiva (26). A microglia pode também contribuir diretamente para a perda neuronal por diferentes vias, tais como a fagocitose induzida pela  $\beta$ -amiloide e excesso de remoção de sinapses por via de ativação do complemento (4).

A presença de oligómeros de A $\beta$  determina a ativação aberrante do complemento, mesmo antes da deposição de placas (38). Um estudo em que foi feito o *knockout* do recetor do C3, revelou uma menor ativação das células de glia à deposição de placas, o que resultou na proteção sináptica e manutenção das capacidades cognitivas (38). Por outro lado, a C3 apresenta alguma ação benéfica, ao favorecer a remoção das placas, e a sua deficiência está relacionada com o aumento da velocidade de deposição das mesmas (38). Estes resultados controversos podem ser explicados pelo facto de na DA a modulação da cascata do complemento pode estar alterada, pelo que a negatividade dos fatores do complemento de dever a um aspeto mais qualitativo do que quantitativo (25). Por exemplo, doentes com níveis elevados de C9, componente final da cascata, bem como a deficiência da proteína CD59 (inibe a lise), podem explicar a deficiente modulação da ativação do complemento nos doentes com AD (25).

O papel da microglia na doença de alzheimer parece ter assim uma dualidade de funções (35). Enquanto que a ativação moderada tem um efeito protetor, facilitando a clearance dos depósitos de  $\beta$ -amiloide, a ativação crónica da microglia pela  $\beta$ -amiloide e a APP parece estar envolvida na exacerbação da resposta inflamatória, e contribuir para a progressão da neurodegeneração no hipocampo (35). Não é ainda de excluir que a microglia sofre um processo replicativo natural de envelhecimento e a presença de microglia velha ou disfuncional pode representar um passo crucial na direção da neurodegeneração (39). De facto, estudos apontam para a presença de microglia envelhecida no desenvolvimento do processo de neurodegeneração (35). Assim é necessário muito importante aprofundar os conhecimentos sobre o mecanismo molecular pela quais a microglia está envolvida na patogénese da doença de Alzheimer (35).

## 8. Conclusão e Perspetivas futuras

As células de glia, apesar de contribuírem com mais de metade das células que constituem o parênquima do SNC, passaram mais de um século reconhecidas apenas como células de suporte, sem grande contributo para o funcionamento neuronal (40). Contudo, nas últimas décadas, estudos mais aprofundados sobre a glia permitiram conhecer a heterogeneidade desta população, constituída pelos astrócitos, microglia, oligodendrócitos e NG2-cells, e observar a complexidade de funções em que as diferentes populações participam no SNC (4).

Esta monografia tem como principal objetivo compreender o papel das células de glia em duas das principais doenças neurodegenerativas. Para tal, foram apresentadas as principais características e funções dos astrócitos e da microglia. Os astrócitos são a maior população de células glia, cruciais para a manutenção e funcionamento neuronal (13). Contribuem com suporte estrutural e metabólico, são responsáveis pela regulação da função sináptica, da homeostasia iónica e da água, fornecem fatores neutróficos, contribuem para a manutenção da BHE e auxiliam na resposta inflamatória, em resultado de uma lesão ou estimulação por agentes patogénicos (13). A microglia, constituída por células mielóides imunocompetentes, desempenha uma complexidade de funções tanto em condições fisiológicas, como em situações de doença (26). São responsáveis pela vigilância e manutenção da homeostasia do microambiente cerebral, desempenham funções ao nível da eliminação/manutenção e da plasticidade de sinapses e desempenham um papel crucial na resposta e amplificação de processos inflamatórios (26).

A complexidade das interações e funções desempenhadas por estas células coloca em causa o normal funcionamento do SNC em situações patológicas, especialmente em condições neurodegenerativas, como a doença de Parkinson e a doença de Alzheimer (1). A neurodegeneração nestas doenças é acompanhada por alterações morfológicas e funcionais dos astrócitos e da microglia, em resultado da interação patológica neuroglial, que culmina com a criação de um ambiente impossível à sobrevivência dos neurónios (1). A realização de estudos em modelos animais e em cérebros *post mortem* de humanos, permitiu observar a ativação da microglia e dos astrócitos, desde as fases iniciais dos processos neurodegenerativos, em ambas as doenças (1).

Na doença de Parkinson, a disfunção das células de glia, acompanhada com a forte presença de gliose (ativação microglial e astrocítica) está relacionada com a marcante disfunção mitocondrial, aumento do stresse oxidativo e aumento dos processos neuroinflamatórios, sendo estas reconhecidas como causas que conduzem à neurodegeneração do sistema dopaminérgico (25). No caso da doença de Alzheimer, surgem grandes evidências da presença de astrócitos reativos e microglia ativada junto das placas de A $\beta$ , estando estes achados relacionados com a exacerbada produção de citocinas e quimiocinas pro-inflamatórias, bem como o aumento de ROS, contribuindo para o acelerar do processo neurodegenerativo (25). O conhecimento o sobre o envolvimento das células de glia em mecanismos associados aos processos neurodegenerativos poderá abrir portas a novas abordagens terapêuticas, tendo estas células ou as alterações funcionais destas como alvo terapêutico (35) (41).

Apesar do conhecimento sobre os mecanismos compreendidos na fisiopatologia das doenças de Parkinson e de Alzheimer terem aumentando ao longo dos últimos anos, e da forte evidência científica da implicação dos astrócitos e da microglia em processos envolvidos com o aumento

do stress oxidativo e do processo neuroinflamatório, ainda falta compreender a extensão de todos os processos implicados, pelo que serão necessários mais estudos nesta área.

## **Bibliografia:**

1. Cragnolini A, Lampitella G, Virtuoso A, Viscovo I, Panetsos F, Papa M, et al. Regional brain susceptibility to neurodegeneration: What is the role of glial cells? *Neural Regen Res.* 2020;15(5):838–42.
2. Kimelberg HK, Nedergaard M. Functions of Astrocytes and their Potential As Therapeutic Targets. *Neurotherapeutics.* 2010;7(4):338–53.
3. von Bartheld CS, Bahney J, Herculano-Houzel S. The search for true numbers of neurons and glial cells in the human brain: A review of 150 years of cell counting. *J Comp Neurol.* 2016;524(18):3865-3895.
4. Jäkel S, Dimou L. Glial cells and their function in the adult brain: A journey through the history of their ablation. *Front Cell Neurosci.* 2017;11(February):1–17.
5. DiSabato DJ, Quan N, Godbout JP. Neuroinflammation: the devil is in the details. *J Neurochem.* 1 de Outubro de 2016;139:136–53.
6. Dugger BN, Dickson DW. Pathology of neurodegenerative diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017;9(7):1–22.
7. Joe EH, Choi DJ, An J, Eun JH, Jou I, Park S. Astrocytes, microglia, and Parkinson’s disease. *Exp Neurol.* 2018;27(2):77–87.
8. Vasile F, Dossi E, Rouach N. Human astrocytes: structure and functions in the healthy brain. *Brain Struct Funct.* 2017;222(5):2017–29.
9. Yang Z, Wang KKW. Glial fibrillary acidic protein: From intermediate filament assembly and gliosis to neurobiomarker. *Trends Neurosci.* 2015;38(6):364–74.
10. Li K, Li J, Zheng J, Qin S. Reactive Astrocytes in Neurodegenerative Diseases. *Aging Dis.* 2019;10(3):664.
11. Oberheim NA, Takano T, Han X, He W, Lin JHC, Wang F, et al. Uniquely hominid features of adult human astrocytes. *J Neurosci.* 2009;29(10):3276–87.
12. Verkhratsky A, Nedergaard M. Physiology of astroglia. *Physiol Rev.* 2018;98(1):239–389.
13. Booth HDE, Hirst WD, Wade-Martins R. The Role of Astrocyte Dysfunction in Parkinson’s Disease Pathogenesis. *Trends Neurosci [Internet].* 2017;40(6):358–70. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2017.04.001>
14. Ioannou MS, Jackson J, Sheu SH, Chang CL, Weigel A V., Liu H, et al. Neuron-Astrocyte Metabolic Coupling Protects against Activity-Induced Fatty Acid Toxicity. *Cell [Internet].* 2019;177(6):1522-1535.e14. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.04.001>
15. Morita M, Ikeshima-Kataoka H, Kreft M, Vardjan N, Zorec R, Noda M. Metabolic plasticity of astrocytes and aging of the brain. *Int J Mol Sci.* 2019;20(4).

16. Hillen AEJ, Burbach JPH, Hol EM. Cell adhesion and matricellular support by astrocytes of the tripartite synapse. *Prog Neurobiol* [Internet]. 2018;165–167(July 2017):66–86. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2018.02.002>
17. Tönnies E, Trushina E. Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. *J Alzheimer's Dis*. 2017;57(4):1105–21.
18. Puspita L, Chung SY, Shim JW. Oxidative stress and cellular pathologies in Parkinson's disease. *Mol Brain*. 2017;10(1):1–12.
19. Chen Y, Qin C, Huang J, Tang X, Liu C, Huang K, et al. The role of astrocytes in oxidative stress of central nervous system: A mixed blessing. *Cell Prolif*. 2020;53(3):1–13.
20. Frost GR, Li YM. The role of astrocytes in amyloid production and Alzheimer's disease. *Open Biol*. 2017;7(12):1–14.
21. Guillamón-Vivancos T, Gómez-Pinedo U, Matías-Guiu J. Astrocytes in neurodegenerative diseases (I): function and molecular description. *Neurol (English Ed)*. 2015;30(2):119–29.
22. Chen Z, Trapp BD. Microglia and neuroprotection. *J Neurochem*. 2016;136:10–7.
23. Cowan M, Petri WA. Microglia: Immune regulators of neurodevelopment. *Front Immunol*. 2018;9(NOV):1–8.
24. Lull ME, Block ML. Microglial Activation and Chronic Neurodegeneration. *Neurotherapeutics*. 2010;7(4):354–65.
25. Luca A, Calandra C, Luca M. Molecular bases of Alzheimer's disease and neurodegeneration: The role of neuroglia. *Aging Dis*. 2018;9(6):1134–52.
26. Salter MW, Stevens B. Microglia emerge as central players in brain disease. *Nat Med*. 2017;23(9):1018–27.
27. Bachiller S, Jiménez-Ferrer I, Paulus A, Yang Y, Swanberg M, Deierborg T, et al. Microglia in neurological diseases: A road map to brain-disease dependent-inflammatory response. *Front Cell Neurosci*. 2018;12(December):1–17.
28. Yong HYF, Rawji KS, Ghorbani S, Xue M, Yong VW. The benefits of neuroinflammation for the repair of the injured central nervous system. *Cell Mol Immunol* [Internet]. 2019;16(6):540–6. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41423-019-0223-3>
29. Refolo V, Stefanova N. Neuroinflammation and glial phenotypic changes in alpha-synucleinopathies. *Front Cell Neurosci*. 2019;13(June):1–17.
30. Lee Y, Lee S, Chang SC, Lee J. Significant roles of neuroinflammation in Parkinson's disease: therapeutic targets for PD prevention. *Arch Pharm Res* [Internet]. 2019;42(5):416–25. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12272-019-01133-0>
31. Cabreira V, Massano J. Parkinson's disease: Clinical review and update. *Acta Med Port*. 2019;32(10):661–70.
32. Rizor A, Pajarillo E, Johnson J, Aschner M, Lee E. Astrocytic oxidative/nitrosative stress contributes to parkinson's disease pathogenesis: The dual role of reactive astrocytes. *Antioxidants*. 2019;8(8).
33. Ferreira SA, Romero-Ramos M. Microglia response during Parkinson's disease: Alpha-synuclein intervention. *Front Cell Neurosci*. 2018;12(August):1–17.
34. Yao N, Wu Y, Zhou Y, Ju L, Liu Y, Ju R, et al. Lesion of the locus coeruleus aggravates dopaminergic neuron degeneration by modulating microglial function in mouse models of Parkinson's disease. *Brain Res* [Internet]. 2015;1625:255–74. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2015.08.032>

35. Fakhoury M. Microglia and astrocytes in Alzheimer's disease: implications for therapy. *Curr Neuropharmacol*. 2017;15:508–18.
36. Bulck M Van, Sierra-Magro A, Alarcon-Gil J, Perez-Castillo A, Morales-Garcia JA. Novel approaches for the treatment of alzheimer's and parkinson's disease. *Int J Mol Sci*. 2019;20(3).
37. Nirzhor SSR, Khan RI, Neelotpol S. The biology of glial cells and their complex roles in Alzheimer's disease: New opportunities in therapy. *Biomolecules*. 2018;8(3):1–21.
38. Ziegler-Waldkirch S, Meyer-Luehmann M. The role of glial cells and synapse loss in mouse models of Alzheimer's disease. *Front Cell Neurosci*. 2018;12(December):1–8.
39. Madore C, Yin Z, Leibowitz J, Butovsky O. Microglia, Lifestyle Stress, and Neurodegeneration. *Immunity* [Internet]. 2020;52(2):222–40. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.12.003>
40. Allen NJ, Lyons DA. System Formation and Function. *Science* (80- ). 2018;185(October):181–5.
41. Ardura-Fabregat A, Boddeke EWGM, Boza-Serrano A, Brioschi S, Castro-Gomez S, Ceyzériat K, et al. Targeting Neuroinflammation to Treat Alzheimer's Disease. *CNS Drugs*. 2017;31(12):1057–82.