

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica**

**Envolvimento do Sistema Glutamatérgico na Fisiopatologia da Doença  
de Alzheimer e Avaliação de seu Tratamento Farmacológico e sua  
Efetividade**

**Patrícia Gomes Silva e Silva**

Trabalho de Conclusão do Curso de  
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de  
Ciências Farmacêuticas da Universidade  
de São Paulo.

Orientador(a):  
Prof.(a). Dr(a) Maria Aparecida Nicoletti

São Paulo  
2019

## SUMÁRIO

SUMÁRIO .....	1
LISTA DE FIGURAS .....	2
LISTA DE TABELAS .....	3
LISTA DE ABREVIATURAS.....	4
RESUMO .....	6
1 INTRODUÇÃO.....	8
2 OBJETIVOS.....	9
3 MATERIAIS E MÉTODOS .....	9
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	10
4.1 Conceitos Básicos de Neurologia.....	10
4.1.1 Transmissão Sináptica .....	11
4.2 Doenças Neurodegenerativas .....	12
4.2.1 Mecanismos Básicos das Doenças Neurodegenerativas.....	13
4.2.1.1 Radicais Livres.....	14
4.2.1.2 Microglia e Astrócitos .....	15
4.3 Doença de Alzheimer .....	16
4.3.1 Sintomas e Diagnósticos .....	17
4.3.2 Fatores de Risco .....	18
4.3.3 Fisiopatologia .....	19
4.3.3.1 Sistema Colinérgico .....	21
4.3.3.2 Placas Senis .....	23
4.3.3.3 Emaranhados Neurofibrilares.....	27
4.3.3.4 Excitotoxicidade Mediada por Glutamato .....	28
4.4 Tratamentos farmacológicos .....	33
4.4.1 Inibidores Colinesterásicos .....	34
4.4.2 Antagonista de NMDA – Memantina .....	40
5 CONCLUSÃO .....	41
BIBLIOGRAFIA .....	43

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** – Esquema do reconhecimento do NT ao seu receptor específico

**Figura 2** – Regiões afetadas na DA (vermelho) e outras regiões do cérebro

**Figura 3** – Estruturas Básicas do Lobo Temporal Medial Essenciais para o Armazenamento de Memória

**Figura 4** – Cérebro de uma pessoa saudável (A) e de um indivíduo com DA (B)

**Figura 5** – Síntese de Acetilcolina

**Figura 6** – Acúmulo de beta-amiloide no córtex frontal superior

**Figura 7** – Mecanismo de processamento da APP

**Figura 8** – Processo de Clivagem da APP

**Figura 9** – Diferença entre Neurônios de Pessoas Saudáveis (A) e de Pessoas Acometidas pela DA (B)

**Figura 10** – Esquema da formação de glutamato e seus receptores, vesículas e transportadores

**Figura 11** – Esquema da liberação de glutamato e de seus receptores

**Figura 12** – Estrutura molecular da Tacrina (esquerda) e seu principal metabólito, a 1-hidroxitacrina

**Figura 13** – Estrutura molecular da Donepezila

**Figura 14** – Estrutura molecular da Rivastigmina

**Figura 15** – Estrutura molecular da Galantamina

**Figura 16** – Modelos de relação estrutura-atividade entre AChE e (A) Donepezila e (B) Galantamina

**Figura 17** – Estrutura molecular da Memantina

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** – Doses respectivas aos inibidores da colinesterase

## LISTA DE ABREVIATURAS

Ach	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
AMPA	Alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropionico
ApoE	Apolipoproteína E
APP	Proteína Precursora Amiloide
A $\beta$ PP	Proteína Precursora Amiloide B
BuChE	Butirilcolinesterase
CDK5	Quinase 5 dependente de ciclina ativa
ChEIs	Inibidores da colinesterase
Cu <sup>2+</sup>	Íons cobre
CYP1A2	Citocromo P450 1A2
DA	Doença de Alzheimer
DCB	Disfunção Cognitiva Branda
DH	Doença de Huntington
DP	Doença de Parkinson
EAAC/EAAT3	Transportador de aminoácido excitatório tipo 3
EAAC/EAAT4	Transportador de aminoácido excitatório tipo 4
EAAT	Transportador de aminoácido excitatório
EAAT5	Transportador de aminoácido excitatório tipo 5
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
Fe <sup>2+</sup>	Íons ferro
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GLAST/EAAT1	Transportador de aspartato-glutamato
GLT/EAAT2	Transportadores de glutamato
Glu	Glutamato
GSK-3 $\beta$	Glicogênio sintase quinase-3 $\beta$
IGluRs	Receptores ionotrópicos
IP <sub>3</sub>	Trifosfato de inositol
KA	Cainato
mGluRs	Receptores metabotrópicos
MMSE	<i>Mini-Mental State Examination</i>

NBM	Núcleo Basal de Meynert
NMDA	N-metil-D-aspartato
NPI	Inventário Neuropsiquiátrico
NT	Neurotransmissor
PET scan	Tomografia por emissão de pósitrons
PS1	Presenilina 1
PS2	Presenilina 2
sAPP $\alpha$	$\alpha$ -APP solúvel
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
VDCC	Canal de cálcio voltagem dependente
Zn <sup>2+</sup>	Íons zinco
$\beta$ A	$\beta$ -amiloide

## RESUMO

Silva, P. G. S. **Envolvimento do sistema glutamatérgico na fisiopatologia da doença de Alzheimer e avaliação de seu tratamento farmacológico e efetividade.**

2019. no. 52p. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Palavras-chave: [Alzheimer, sistema glutamatérgico, memantina]

**INTRODUÇÃO:** Atualmente, a Doença de Alzheimer é a maior responsável pela causa de demência relacionada com a idade, e ainda não há tratamentos que eliminem completamente a doença. Os sintomas da doença levam à dificuldade no funcionamento intelectual e ao impedimento da realização de atividades diárias, por meio da formação de placas senis e de emaranhados neurofibrilares no hipocampo e córtex. O acúmulo da proteína amiloide tem sido amplamente ligado à patogênese da DA, bem como a super ativação do sistema glutamatérgico e altas concentrações de glutamato. É uma doença muito importante de ser estudada, pois seu mecanismo ainda não é totalmente conhecido, acomete grande parte da população e o custo para tratamento e cuidados à saúde impactam na qualidade de vida do indivíduo, família – não apenas o lado financeiro – e, também, o Sistema Único de Saúde. **OBJETIVO:** Fazer revisão bibliográfica da teoria dos mecanismos fisiopatológicos da doença de Alzheimer com foco no sistema glutamatérgico, bem como, avaliar dos efeitos e efetividade de alguns fármacos utilizados no tratamento da doença. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Busca de artigos científicos, de publicação dos últimos 15 anos, bem como publicações em bases de dados como Pubmed, utilizando como palavras chaves: “Alzheimer Disease”, “Glutamatergic system”, “Glutamate”, “Memantine”, “Cholinesterase inhibitors”, “Drugs”, “Interaction”, “Pathophysiology”, de modo isolado ou combinado. **RESULTADOS:** Diversos mecanismos patológicos estão envolvidos na Doença de Alzheimer, os quais envolvem o estresse oxidativo e distúrbios em células do sistema nervoso central, como a micróglia e os astrócitos, mecanismos estes semelhantes àqueles encontrados nas doenças neurodegenerativas em geral. A fisiopatologia da doença em questão envolve, ainda, a hipótese colinérgica, que sustenta a ideia da diminuição dos níveis de acetilcolina nas sinapses, levando à degeneração dos neurônios colinérgicos; e a hipótese glutamatérgica, baseado na excitotoxicidade mediada por altos níveis de glutamato, o qual causa a ativação excessiva de receptores NMDA, levando ao influxo de cálcio intracelular, que causa neurotoxicidade. Além disso, também há a presença de placas senis, resultado do acúmulo de peptídeos  $\beta$ -amiloides entre os neurônios, que causa neurotoxicidade e danos cerebrovasculares, e ainda, ativam a micróglia e os astrócitos; bem como a presença de emaranhados neurofibrilares, resultado da hiperfosforilação da proteína tau. Os sintomas da doença são a consequência desses mecanismos envolvidos, e o indivíduo apresenta perda de memória, incapacidade de realizar as atividades diárias, perda da capacidade de comunicação, vulnerabilidade de infecções e morte. **CONCLUSÃO:** A doença de Alzheimer está envolvida com números mecanismos patológicos, os quais parecem estar altamente relacionados entre si, sendo difícil definir o mais relevante dentre eles. Atualmente, o tratamento existente para a doença

age apenas nos sintomas, e não na cura da doença. A pesquisa por novas drogas baseia-se principalmente na hipótese colinérgica e, também, na glutamatérgica. É necessário que se tenha um conhecimento amplo e interdisciplinar para que novas moléculas sejam desenvolvidas, uma vez que ainda há muito a ser explorado acerca das alterações fisiológicas e biológicas envolvidas nesta patologia.



## 1 INTRODUÇÃO

A demência pode ser provocada por qualquer distúrbio que cause danos permanentes em grandes áreas de associação no encéfalo ou em áreas responsáveis pela memória e aprendizado. A característica inerente da demência é o acometimento da memória de curto e de longo prazo, ligado a um déficit no raciocínio abstrato, comprometimento de funções corticais superiores e até mudanças de personalidade. Uma vez que a doença se torna grave, os sintomas acabam interferindo significativamente nos afazeres diários e no trabalho. As comorbidades mais comuns causadas por demência são a Doença de Alzheimer (DA), demência frontotemporal, demência vascular, síndrome de Wernicke-Korsakoff, coreia de Huntington e doença de Creutzfeldt-Jakob (PORTH e MATFIN, 2010).

A DA é a mais prevalente dentre as doenças neurodegenerativas e a maior causa de demência no mundo inteiro, representando de 60 a 80% dos casos (CERQUERA-JARAMILLO, NAVA-MESA, *et al.*, 2018). Atualmente, o número estimado de pessoas acometidas por demência gira em torno de 50 milhões no mundo inteiro, onde dois terços apresentam DA, e o número projetado para o ano de 2050 é de aproximadamente 150 milhões (AKZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL, 2018). O fator mais significativo desta doença é a idade, porém, há diversos fatores de riscos modificáveis e não modificáveis relacionados com a DA (CERQUERA-JARAMILLO, NAVA-MESA, *et al.*, 2018).

Em termos fisiopatológicos, há duas proteínas presentes no cérebro relacionadas com esta doença – a proteína chamada beta-amiloide ou apenas amiloide, a qual é capaz de formar o acúmulo de placas entre os neurônios por atingir concentrações anormais no cérebro de pacientes que apresentam esta morbidade, perturbando a função celular (AKZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL, 2018).; e a proteína tau, que se encontra fosforilada na DA, resultando em um acúmulo no compartimento somatodendrítico e acaba por formar emaranhados neurofibrilares dentro dos neurônios, contribuindo na disfunção neuronal, como transporte axonal e respiração mitocondrial (POROWSKA, WASIK, *et al.*, 2014).

Porém, as características patológicas da DA não estão restritas apenas à essas duas proteínas citadas, mas também envolve neuroinflamação, estresse oxidativo, anormalidades cerebrovasculares e resistência alterada à insulina, as quais possuem

relação recíproca e altamente complexa com a lesão colinérgica (CUELLO, CAVEDO, *et al.*, 2018).

Além disso, existem evidências da perda sináptica glutamatérgica e de mecanismos excitotóxicos mediados pelo glutamato no comprometimento cognitivo na doença de Alzheimer (ZHANG, QI, *et al.*, 2017). Tais mecanismos estão ligados com a despolarização persistente da membrana neuronal, causando um grande aumento de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) intracelular. Esse fenômeno, mais conhecido como excitotoxicidade, pode resultar em necrose excitotóxica dos neurônios corticais e subcorticais (HYND, SCOTT e DODD, 2004). Com base nisso, a busca em estratégias terapêuticas baseadas no glutamato é muito forte, evidenciado pelo desenvolvimento do fármaco chamado memantina, um antagonista de um dos receptores de glutamato (ZHANG, QI, *et al.*, 2017).

A expectativa de vida no mundo aumenta a cada ano, principalmente com a descoberta de novas tecnologias e desenvolvimento de novos fármacos, e estima-se que 29% da população no mundo todo terá mais de 60 anos em 2025, o que implica a um aumento de idosos que estão sujeitos a adquirir doenças crônicas relacionadas à idade. O custo social para a sociedade irá aumentar devido a esses fatos, além de colocar maior carga financeira nos serviços de saúde (RAHMAN, 2007).

## **2 OBJETIVOS**

Elaborar a revisão bibliográfica da teoria dos mecanismos fisiopatológicos da doença de Alzheimer com foco no sistema glutamatérgico, abordando conceitos básicas da neurologia, bem como a avaliação dos efeitos e eficácia de fármacos utilizados no tratamento da doença.

## **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

Para a estruturação deste trabalho foi realizada busca de artigos científicos publicados no período dos últimos 15 anos, em bases de dados como *US National Library of Medicine – National Institutes of Health* (Pubmed), *Web of Science*, *Scientific Eletronic Library online* (SciELO), *ScienceDirect* (principalmente para o acesso ao periódico *Neuropharmacology*), *Google Scholar* e *SciFinder* utilizando como

descritores: “Alzheimer Disease”, “Glutamatergic system”, “Glutamate”, “Memantine”, “Cholinesterase inhibitors”, “Drugs”, “Interaction”, “Pathophysiology”, de modo isolado ou combinado.

Foram utilizados, como critérios de inclusão, publicações em português e inglês, cujo tema estivesse relacionado diretamente ao objetivo proposto e que evidenciassem a relação existente entre a doença de Alzheimer e o sistema glutamatérgico, e seus mecanismos envolvidos, bem como estudos que avaliassem os tratamentos existentes.

Como critérios de exclusão foi estabelecido que após a leitura dos títulos e resumos dos artigos selecionados, aqueles que não apresentavam textos concisos, bem delineados, consistentes e relevantes não tiveram sua leitura na íntegra e, portanto, descartados na abordagem.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Conceitos Básicos de Neurologia**

No organismo, o sistema nervoso, associado ao sistema endócrino, dispõe de meios que integram as funções celulares e teciduais. Ele contribui na regulação da atividade cardíaca e da musculatura lisa visceral, além de controlar a movimentação da musculatura esquelética. O sistema nervoso disponibiliza substratos necessários para o intelecto, previsão e julgamento; auxilia o ajuste às mudanças do ambiente externo; e viabiliza a recepção, a integração e a percepção de informações sensoriais (PORTH e MATFIN, 2010).

O sistema nervoso como um todo pode ser dividido em dois elementos básicos: o sistema nervoso periférico (SNP), o qual tem função de retransmitir informações ao Sistema Nervoso Central (SNC), funcionando como um sistema de entrada e saída, bem como retransmitir estímulos controladores de órgãos efetores, como por exemplo, glândulas e músculos (PORTH e MATFIN, 2010); e o segundo componente é o sistema nervoso central, o qual será mais abordado neste presente trabalho. O SNC constitui o cérebro, protegido pelo crânio, e a medula espinal, protegida pela coluna vertebral (FARLEY, JOHNSTONE, *et al.*, 2014).

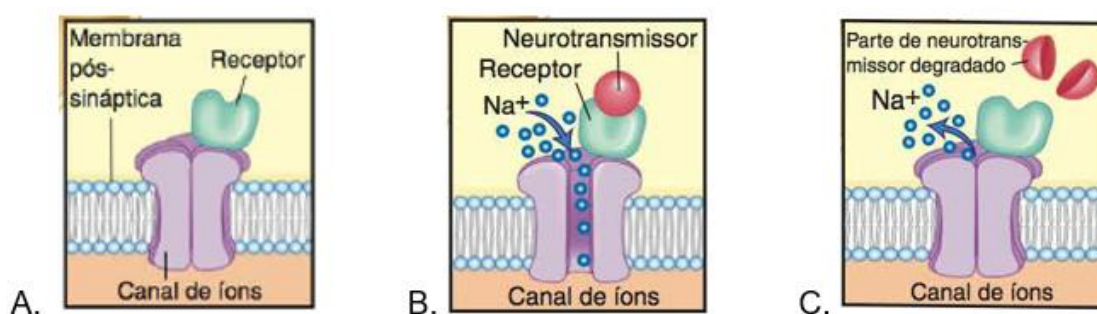
Há dois tipos de tecidos no SNC – a substância cinzenta e a substância branca. A primeira consiste em corpos celulares neuronais, dendritos e sinapses, e a substância branca, por axônios e mielina. Sabe-se que a substância cinza se desenvolve mais rapidamente do que a branca, ao passo que esta última apresenta uma perda mais rápida na terceira idade. Por exemplo, é observado na doença de Alzheimer uma atrofia grave da substância cinzenta no hipocampo e córtex entorrinal (BARHA e NAGAMATSU, 2016).

#### 4.1.1 Transmissão Sináptica

Há uma imensa quantidade de neurônios no encéfalo humano, que podem se comunicar diretamente entre si. Essa comunicação entre neurônios é denominada sinapse e é a premissa de processos complexos que ocorrem em nosso organismo que nos permitem realizar todas as funções que desejamos, como percepção sensorial, movimento, aprendizado, memória e emoções. Isso se deve à vasta variedade de sinapses, as quais são responsáveis pela comunicação intercelular (BRUSCO, BUENO-JÚNIOR, *et al.*, 2011).

Há dois tipos de sinapses presentes no SNC – a química, a mais comum e que será focada neste trabalho, e a elétrica. A sinapse química, ou transmissão sináptica, ocorre por meio da liberação de mensageiros químicos, chamados neurotransmissores (NTs), a partir do neurônio pré-sináptico – o qual possui organelas chamadas vesículas sinápticas, que armazenam NTs – e posterior reconhecimento destas moléculas por receptores específicos nos neurônios pós-sinápticos (TAVARES, 2005), conforme mostrado na Figura 1.

Figura 1 – Esquema do reconhecimento do NT ao seu receptor específico



Fonte: PORTH e MATFIN, 2010 (adaptada).

Existem diversos neurotransmissores que podem incluir aminoácidos, peptídeos e monoaminas. Por exemplo, o ácido gama-aminobutírico (GABA) é o maior responsável pela inibição sináptica no SNC e, juntamente, com a glutamina e a glicina, funciona como NT na maior parte das sinapses no SNC. Pela denominação conclui-se que as monoaminas possuem um grupamento amino ( $\text{NH}_2$ ), e são elas: serotonina, epinefrina, norepinefrina e dopamina (PORTH e MATFIN, 2010).

A acetilcolina (Ach) foi a primeira a ser identificada como neurotransmissor, envolvida no controle cognitivo e motor. É sintetizada e é degradada em ácido acético e colina pela enzima acetilcolinesterase (AchE), sendo uma reação muito rápida, fazendo com que a molécula de colina seja recaptada para o neurônio pré-sináptico para que seja posteriormente reutilizada na formação de acetilcolina. Isso é de extrema importância, pois é preciso que haja um controle da transmissão neural e, para tanto, os NTs devem ser removidos rapidamente (PICCIOTTO, HIGLEY e MINEUS, 2012).

As densidades pós-sinápticas são sensíveis a ativações excessivas. Em relação ao cérebro humano, se, por exemplo, o sistema glutamatérgico for excessivamente ativado, poderá resultar na morte neuronal, gerando doenças neurodegenerativas. Este fenômeno é denominado excitotoxicidade (BRUSCO, BUENO-JÚNIOR, *et al.*, 2011).

## **4.2 Doenças Neurodegenerativas**

Os distúrbios degenerativos neurais caracterizam-se pela perda progressiva e irreversível dos neurônios localizados em regiões específicas do cérebro. Os protótipos das doenças neurodegenerativas são a doença de Alzheimer (na qual a disfunção cognitiva e o déficit de memória são causados pela perda dos neurônios do hipocampo e do córtex), as Doenças de Parkinson (DP) e de Huntington (DH), (as quais apresentam desequilíbrios do domínio dos movimentos pela morte dos neurônios das estruturas basais) e, ainda, a esclerose lateral amiotrófica (a qual se manifesta pela degeneração dos neurônios motores espinais, bulbares e corticais, ocasionando fraqueza muscular) (BRUNTON, CHABNER e KNOLLMANN, 2012).

Portanto, podemos dizer que este fenômeno que aflige principalmente indivíduos idosos, a degeneração do SNC, é determinado pela perda gradativa e crônica da

estrutura e função de elementos neuronais, ocasionando prejuízos funcionais e mentais (CHEN, HUANG e ZHANG, 2016).

As doenças neurodegenerativas apresentam um ponto relevante, onde cada mecanismo patológico dispõe de uma particularidade para certos tipos de neurônios. Na DA, o processo patológico que podemos observar é o dano neuronal principalmente no hipocampo e no neocórtex e, por outro lado, no córtex há uma perda de neurônios não homogênea com variações notáveis nas regiões funcionais. Em contrapartida, observamos uma grande degeneração dos neurônios dopaminérgicos da substância negra na DP, por exemplo, ao passo que os neurônios corticais e outras regiões do cérebro não são afetadas (BRUNTON, CHABNER e KNOLLMANN, 2012).

A disparidade desses padrões de neurodegeneração indica que a relação de fatores genéticos e ambientais, juntamente com fatores fisiológicos específicos de diferentes tipos de neurônios, influenciam no processo de dano neuronal (GITLER, DHILLON e SHORTER, 2017). Dentre essas características específicas, podemos citar a produção de radicais livres tóxicos resultantes do metabolismo celular, as variações regionais em que o metabolismo oxidativo pode ser realizado e a susceptibilidade frente ao dano excitotóxico (BRUNTON, CHABNER e KNOLLMANN, 2012).

#### **4.2.1 Mecanismos Básicos das Doenças Neurodegenerativas**

Como já citado anteriormente, as doenças neurodegenerativas possuem fenótipos distintos, contudo, tais distúrbios possuem alguns mecanismos celulares semelhantes entre si. Um exemplo disso é a agregação e má formação de proteínas encontradas nas principais enfermidades que envolvem o sistema nervoso central (GITLER, DHILLON e SHORTER, 2017).

A influência e a interação entre radicais livres formados pelo organismo, dos antioxidantes e cofatores também estão interligados com a preservação da saúde, o envelhecimento e as doenças relativas. O estresse oxidativo é induzido pelos radicais livres e estabilizado pelo consumo de antioxidantes exógenos e por mecanismos antioxidantes endógenos acompanhados de cofatores. Caso a formação de radicais livres ultrapasse os efeitos protetores dos antioxidantes presentes no organismo juntamente com alguns cofatores, danos oxidativos podem ser gerados e acumulados ao longo da vida (RAHMAN, 2007). Como resultado a este excesso de radicais livres,

o acúmulo de produtos que comprometem as funções e as estruturas celulares é intensificado e acarreta na degeneração celular e morte (RADI, 2018).

Os mecanismos citados foram bastante relacionados com o envelhecimento e doenças dependentes da idade, como doenças neurodegenerativas, câncer, doenças cardiovasculares, distúrbios e outras condições crônicas (RAHMAN, 2007).

#### 4.2.1.1 Radicais Livres

Um radical livre é uma molécula instável, reativa e de meia-vida curta, a qual apresenta um elétron desemparelhado em seu orbital molecular externo e, é formada ao longo da vida em indivíduos aeróbicos (RADI, 2018). A energia presente por essa instabilidade no radical livre é liberada por meio de reações com substâncias químicas inorgânicas ou orgânicas como, por exemplo, lipídios, carboidratos, proteínas, ácidos nucleicos – tais substâncias são componentes fundamentais de membranas e núcleos celulares (LUSHCHAK, 2014). Além disso, os radicais livres são capazes de provocar reações auto catalíticas, transformando em radicais livres as moléculas que reagem com eles, promovendo assim a cadeia de danos (KUMAR, ABBAS, *et al.*, 2010).

Os principais mediadores envolvidos nas ações de radiação ionizante são radicais livres derivados do  $O_2$ , os quais são o ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), o radical hidroxila ( $\bullet OH$ ) e os radicais peroxil ( $ROO^{\bullet}$ ), e representam Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) (LUSHCHAK, 2014). Esses tipos de radicais livres são geralmente produzidos nas células através da respiração e produção de energia mitocondrial, sendo posteriormente eliminados pelos sistemas celulares de defesa. Sendo assim, há uma transitoriedade na presença de radicais livres no organismo, em baixas concentrações, de modo que não provoquem danos, sendo que esta transitoriedade é mantida pelas células (POPRAC, JOMOVA, *et al.*, 2017). Quando há um aumento da concentração de ERO ou quando os sistemas de remoção não são eficientes, a consequência será o excesso destes radicais livres, levando ao fenômeno chamado *estresse oxidativo* (VALKO, RHODES, *et al.*, 2005).

Há alguns fatores que levam ao desequilíbrio de produção e eliminação de EROs, os quais podem ser o déficit de reservas antioxidantes, inativação de enzimas antioxidantes, aumento de compostos endógenos e exógenos ou a combinação dessas condições (LUSHCHAK, 2014).

O estresse oxidativo tem sido relacionado com diversos tipos de processos patológicos, como lesões celulares, envelhecimento, câncer e certas doenças degenerativas, como a DA (KUMAR, ABBAS, *et al.*, 2010).

O aumento de ERO na DA está ligado com a oxidação nas proteínas em suas cadeias laterais. Estudos recentes em pacientes com DA indicaram um aumento na quebra de DNA no cérebro, o que pode ser justificado pelo aumento de ERO neste local, o que induziria ao influxo de cálcio através de receptores de glutamato, provocando uma toxicidade cerebral e levando à morte celular (GEMELLI, ANDRADE e CASTRO, 2013).

#### **4.2.1.2 Microglia e Astrócitos**

Nas doenças neurodegenerativas, distúrbios imunomediados e na presença de infecções virais ocorre sempre a ativação imune no SNC. A micróglia e os astrócitos estão envolvidos nesta ativação imune, e constituem as células imunes residentes no SNC e, durante o desenvolvimento, a idade adulta e o envelhecimento, desempenham um papel importante na regulação da homeostase do cérebro (CHEN, HUANG e ZHANG, 2016).

A micróglia apresenta uma relevância crescente na manutenção da função cerebral normal e é caracterizada como a célula imunocompetente do cérebro. Essa célula está presente no cérebro no início do desenvolvimento fetal, adquirindo um fenótipo altamente ramificado e estão constantemente examinando seu microambiente. Qualquer mudança na homeostase do cérebro ou qualquer evento patológico pode ativar a micróglia, sendo considerada o fagócito do cérebro, pois auxilia na resposta imunológica (WOLF, BODDEKE e KETTENMANN, 2017).

Os astrócitos estão presentes em maior quantidade e possuem uma relação importante entre neurônios, principalmente entre as sinapses. Estas células auxiliam no equilíbrio da concentração de íon potássio no espaço extracelular entre os neurônios, protegendo-os, uma vez que são altamente permeáveis a este íon. E ainda, outra função dessas células neurogliais é a recaptação de NTs liberados nas zonas sinápticas, auxiliando na regulação da atividade sináptica (PORTH e MATFIN, 2010).

A regulação da atividade neuronal e a transmissão de sinais neuronais são consequências do papel realizado pelos astrócitos, células que permitem a homeostase cerebral. A remoção do NTs glutamato na fenda sináptica é realizada



pelos transportadores gliais, destacando a importância dessas células na fisiologia cerebral (OLIVARES-BAÑUELOS, CHÍ-CASTAÑEDA e ORTEGA, 2019).

A micróglia é capaz de produzir fatores que influenciam astrócitos e neurônios circunvizinhos, resultando em uma resposta inflamatória que engaja uma resposta autolimitada por meio do sistema imunológico, que faz com que a reparação de tecidos seja iniciada (CHEN, HUANG e ZHANG, 2016).

No entanto, em um cenário onde a inflamação na patologia tecidual age amplificando o estado de uma doença pela produção de fatores neurotóxicos, indica a persistência de estímulos inflamatórios ou falha nos mecanismos normais de resolução. Assim, indutores específicos de inflamação associados a doenças neurodegenerativas convergem em mecanismos responsáveis na detecção, transdução e amplificação dos processos inflamatórios que resultam na produção de mediadores neurotóxicos, como citocinas e interleucinas. Esses mediadores neurotóxicos estão, em geral, associados a várias doenças neurodegenerativas, incluindo doença de Alzheimer, esclerose múltipla, doença de Parkinson e Esclerose Lateral Amiotrófica (CHEN, HUANG e ZHANG, 2016).

#### **4.3 Doença de Alzheimer**

A doença de Alzheimer é conhecida há mais de 100 anos, porém, somente 70 anos após ser descoberta, foi reconhecida como sendo a maior causadora de morte dentre as demências. Acredita-se que a detecção precoce desta doença pode ser a chave para prevenção, redução e interrupção da mesma (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2019)

Como já citado anteriormente, a DA é uma comorbidade neurodegenerativa prevalente e gradual que afeta milhões de pessoas no mundo. Esta doença é classificada em dois tipos: familiar de início precoce relacionada com mutações autossômicas específicas nos genes que codificam a proteína precursora amiloide  $\beta$  (A $\beta$ PP) e nas enzimas que clivam esta proteína, a presenilina 1 (PS1), presenilina 2 (PS2) (AGOSTINHO, PLIÁSSOVA, *et al.*, 2014); e doença esporádica com início tardio, a qual será abordada neste texto, causada por mutações nos genes codificadores da apolipoproteína E (ApoE), influenciada também por diversos fatores de risco ambientais e genéticos, os quais são poucos conhecidos atualmente (CORRÊA-VELLOSO, GONÇALVES, *et al.*, 2017).

Pela maior expectativa de vida, além do declínio de níveis de estrogênios após a menopausa que pode aumentar o risco de desenvolver a doença, mulheres são mais susceptíveis do que homens a apresentar DA (CHEIGNON, TOMAS, *et al.*, 2017). A maioria dos casos de DA é a esporádica, com início tardio, sendo 5% a 10% causada pelo tipo familiar. Os estudos de casos familiares possibilitaram avanços relevantes na compreensão da patogenia causada pela forma esporádica (KUMAR, ABBAS, *et al.*, 2010).

#### **4.3.1 Sintomas e Diagnósticos**

Os sintomas e sinais iniciais típicos dessa doença estão relacionados às disfunções no lobo temporal medial, incluindo córtex entorrinal e hipocampo, resultando na perda transitória de memória, perguntas repetitivas, organização inadequada de objetos, perda de compromissos, esquecimento de afazeres do dia-a-dia. A pessoa começa a apresentar déficit de memória perceptível por ela mesma e/ou por conhecidos, porém, este problema inicial não limita suas funções do cotidiano – os pacientes com essa condição são diagnosticados com disfunção cognitiva branda (DCB). Os pacientes com DCB avançam aproximadamente 10% ao ano para a DA, apesar de que nem todos desenvolvam esta comorbidade no futuro (BRUNTON, CHABNER e KNOLLMANN, 2012).

O sintoma inicial de perda de memória piora gradualmente e isso ocorre devido aos primeiros danos que ocorrem na doença, nos neurônios localizados no cérebro responsáveis pela formação de novas memórias. A disfunção cortical se encontra cada vez mais grave e, após 5 a 10 anos, o paciente afetado se torna altamente incapacitado, imóvel e mudo (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2019).

Outros sintomas comuns da doença são problemas com as palavras enquanto escreve ou se comunica, aumento da ansiedade, distúrbios do sono e agitação, confusão o tempo ou lugar em que se encontra, dificuldades para resolver problemas, mudanças no humor e na personalidade, apatia, depressão, entre outros (CUMMINGS, LAI, *et al.*, 2015). Nos estágios mais avançados, o paciente necessita de ajuda com atividades básicas do cotidiano, chega a perder a capacidade de se comunicar e a capacidade de reconhecer seus familiares. Uma vez que os indivíduos possuem dificuldade para se mover, chegam em um estágio de vulnerabilidade a

infecções, incluindo pneumonia, a qual geralmente leva à morte das pessoas que apresentam essa comorbidade (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2019).

O diagnóstico da DA baseia-se, primordialmente, pelos sinais clínicos embasada na anamnese e em um exame clínico, principalmente psiquiátrico e neurológico (GEMELLI, ANDRADE e CASTRO, 2013). Foi desenvolvido nos Estados Unidos da América um instrumento chamado Mini Exame do Estado Mental (MEEM), ou do inglês, *Mini-Mental State Examination* (MMSE), para que pudesse ser avaliado o estado mental de sintomas de demência (DE MELO e BARBOSA, 2015). Este método baseia-se em 30 perguntas, de aplicação rápida, categorizadas em cinco dimensões: orientação, registro, atenção e cálculo, recordação e linguagem, com uma nota de corte, que depende da doença a ser avaliada, grau de escolaridade da pessoa, para definir se há presença de algum tipo de demência. (NERI, DE MELO e BARBOSA, 2017).

Outro método para avaliar sintomas neuropsiquiátricos e psicopatologia em pacientes é o Inventário Neuropsiquiátrico (NPI) e perguntas são realizadas a um membro da família ou amigo próximo, a fim de avaliar 12 áreas comportamentais envolvidas em demências e avaliar efeitos de tratamentos das doenças (BUDSON e SOLOMON, 2017). O NPI classifica características comportamentais observadas em pacientes com DA, como por exemplo, delírios, agressão, disforia, apatia, indiferença, irritabilidade, etc (GAUTHIER, WIRTH e MOBIUS, 2005).

Para o diagnóstico definitivo da DA, é essencial que seja feito o exame patológico do tecido encefálico, além de métodos radiológicos e elementos clínicos, proporcionando um diagnóstico preciso em até 90% dos casos (KUMAR, ABBAS, *et al.*, 2010).

#### **4.3.2 Fatores de Risco**

Diversos fatores de risco envolvidos na doença de Alzheimer foram identificados, sendo o mais evidente o envelhecimento – a probabilidade do desenvolvimento dessa comorbidade é de 10% para pessoas com menos de 65 anos, aumentando para 50% para pessoas com mais de 85 anos.

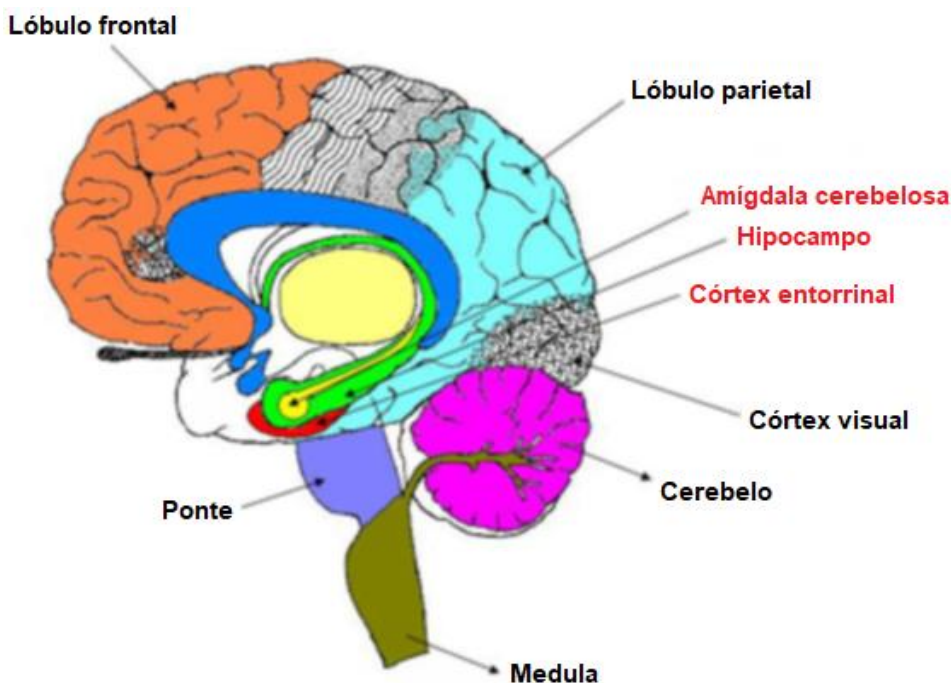
Outros fatores de risco conhecidos são diabetes, doença cardiovascular e, principalmente, a presença da ApoE alelo  $\epsilon 4$ , no caso do tipo esporádico (AGOSTINHO, PLIÁSSOVA, *et al.*, 2014).

### 4.3.3 Fisiopatologia

A doença de Alzheimer apresenta alterações em neurotransmissores e neuropatológicas, caracterizando-se pela perda de neurônios e atrofia cortical, especialmente nos lobos parietal e temporal (PORTH e MATFIN, 2010).

Em relação à perda de massa, a região do cérebro que parece mais afetada na DA é o hipocampo. Um dos primeiros sinais de alterações fisiopatológicas se encontram no lobo temporal do hipocampo (CORRÊA-VELLOSO, GONÇALVES, *et al.*, 2017) e com os neurônios piramidais nas camadas III e V dos neurônios corticais e hipocampais, os quais são inervados por neocórtex e glutamato, ou seja, os neurônios glutamatérgicos estão localizados em regiões afetadas na DA (REVETT, BAKER, *et al.*, 2012). Na Figura 2 abaixo, foram destacadas as regiões mais afetadas na DA (vermelho), e mostradas outras regiões do cérebro.

Figura 2 – Regiões afetadas na DA (vermelho) e outras regiões do cérebro

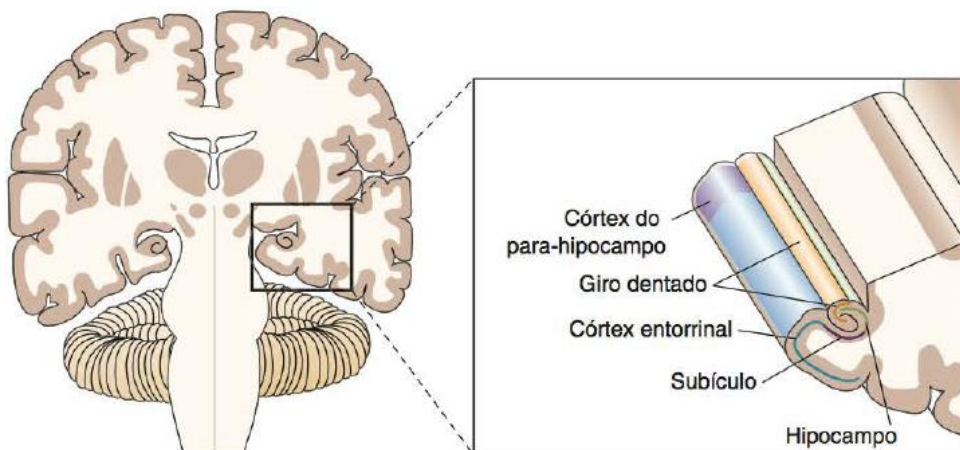


Fonte: DE FALCO, CUKIERMAN, *et al.*, 2015 (adaptada).

O fenômeno que ocorre no hipocampo, ou seja, as alterações neuroanatômicas, resultam nos sintomas conhecidos da doença – os déficits de memória. Além disso, também há um declínio da neurogênese nesta área que também leva à neurodegeneração. Como já dito anteriormente, outra região afetada é o córtex

entorrinal, localizado entre o giro dentado e o hipocampo, como mostra a Figura 3, e apresenta conexões aferentes e eferentes. A região do córtex entorrinal possui uma perda neuronal severa nos estágios iniciais, ocasionando os sintomas citados e à disfunção sináptica (CORRÊA-VELLOSO, GONÇALVES, *et al.*, 2017).

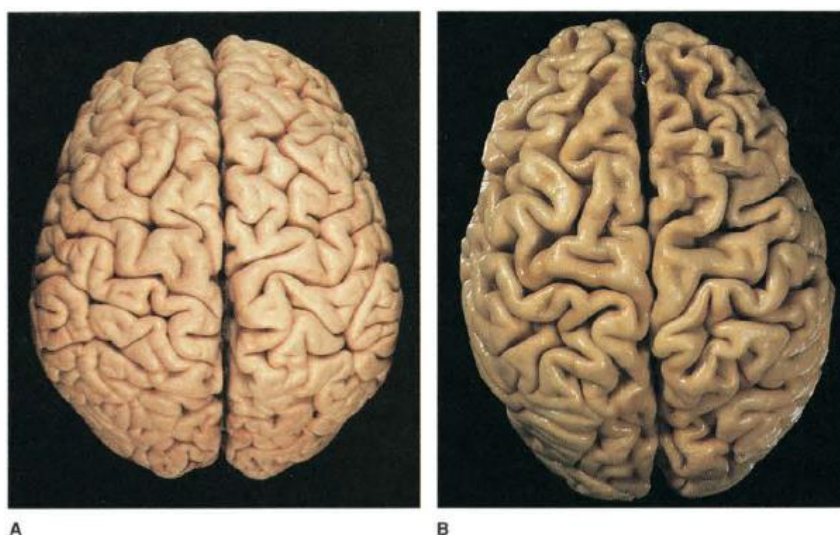
**Figura 3 – Estruturas Básicas do Lobo Temporal Medial Essenciais para o Armazenamento de Memória**



Fonte: PORTH e MATFIN, 2010 (adaptada).

A partir da Figura 4, observa-se uma grande diferença entre o cérebro de uma pessoa normal (A) e de uma pessoa com a DA (B), a qual possui atrofia cortical e sulcos proeminentes e giros muito delgados.

**Figura 4 – Cérebro de uma pessoa saudável (A) e de um indivíduo com DA (B)**



Fonte: PORTH e MATFIN, 2010 (adaptada).

A presença de placas amiloides e emaranhados neurofibrilares é encontrada em diversas partes do cérebro, destacando-se o lobo frontal, hipocampo, córtex cerebral e prosencéfalo basal (FERREIRA-VIEIRA, GUIMARAES, *et al.*, 2016).

Ocorre também a perda maciça de neurônios colinérgicos presentes nos núcleos basais e estudos foram capazes de relacionar as modificações colinérgicas com a presença da proteína amiloide (GODYN, JONCZYK, *et al.*, 2015).

As implicações que envolvem a DA são resultadas da presença constante de processos inflamatórios, excitotoxicidade, estresse oxidativo e ativação da micróglia, ocasionando degeneração tecidual e morte celular (CORRÊA-VELLOSO, GONÇALVES, *et al.*, 2017).

É importante citar ainda que o glutamato, um neurotransmissor excitatório e seu receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), ambos explicados mais a fundo neste texto, estão relacionados à excitotoxicidade e neurodegeneração, devido à ativação crônica destes receptores e ao subsequente aumento patológico da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, levando à morte neuronal (PRICKAERTS, VAN GOETHEM, *et al.*, 2017).

#### **4.3.3.1 Sistema Colinérgico**

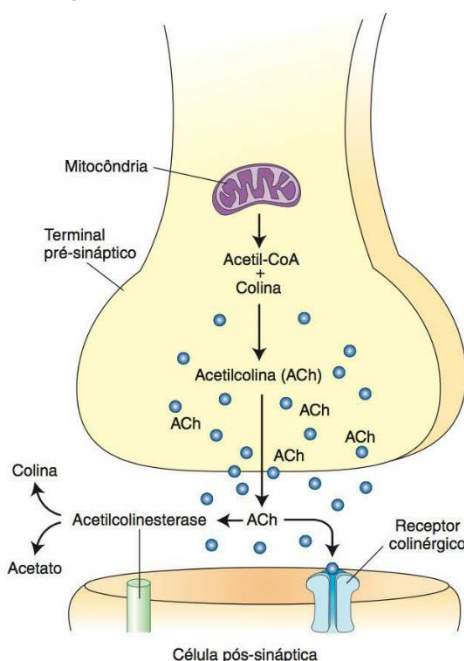
A acetilcolina é um neurotransmissor que está presente em grande quantidade no SNC, atuando no córtex, gânglios da base e prosencéfalo basal (CUELLO, CAVEDO, *et al.*, 2018) e também presente no SNP e na junção neuromuscular. Esta molécula, junto com seus respectivos receptores e com as enzimas envolvidas por sua síntese e degradação, forma o sistema colinérgico. Este conjunto de moléculas complexas é utilizado no desenvolvimento de novos fármacos para certas doenças, como a doença de Alzheimer (VENTURA, ABREU, *et al.*, 2009), uma vez que a Ach apresenta uma grande importância nos processos cognitivos.

Como podemos ver na Figura 5, a síntese de Ach ocorre no terminal pré-sináptico a partir da acetil coenzima A, produto da glicólise, e colina por intermédio da colina acetiltransferase. Ela pode ser inativada na fenda sináptica pela enzima AchE, uma vez que não sofre o processo de recaptação, como muitos outros NTs (BARHA e NAGAMATSU, 2016).

Seus receptores podem ser nicotínicos ou muscarínicos que, uma vez ligados a esse NT, podem levar a ativação de vias bioquímicas ou a despolarização da célula-alvo, propagando assim o impulso nervoso. A figura 5 também ilustra a enzima que

inativa a Ach, a AchE, a qual tem o papel de encerrar a neurotransmissão colinérgica pela quebra do NT em acetato e colina. Além dessa colinesterase, há também a presença da butirilcolinesterase (BuChE) em mamíferos, a qual também possui capacidade em hidrolisar a Ach (WILKINSON, FRANCIS, *et al.*, 2004).

**Figura 5 – Síntese de Acetilcolina**



Fonte: PORTH e MATFIN, 2010 (adaptada).

Ao longo do tempo, foram propostas diversas hipóteses para explicar os mecanismos envolvidos na DA, e a primeira delas foi a do déficit colinérgico, formulado por Davies e Maloney em 1976. Acredita-se que os sintomas de perda de memória, aprendizagem e atenção, entre muitos outros envolvidos nesta doença, são causados por uma disfunção neste sistema pela falta de Ach (GODYN, JONCZYK, *et al.*, 2015) ainda nos estágios iniciais ou assintomáticos nesta comorbidade, uma vez que este NT desempenha um papel fundamental na memória e cognição. A lesão colinérgica é embasada na degeneração dos neurônios colinérgicos no Núcleo Basal de Meynert (NBM) (CUELLO, CAVEDO, *et al.*, 2018) e dos axônios projetados no córtex cerebral, diminuindo a concentração de Ach nas sinapses colinérgicas. Acredita-se que ao inibir a AchE, os níveis de Ach aumentam diretamente, ocasionando uma melhora na transmissão colinérgica (ATANASOVA, STAVRAKOVA, *et al.*, 2015).

Estudos post-mortem revelaram que os emaranhados neurofibrilares no NBM estão associados e são provavelmente a causa da perda de inervação colinérgica



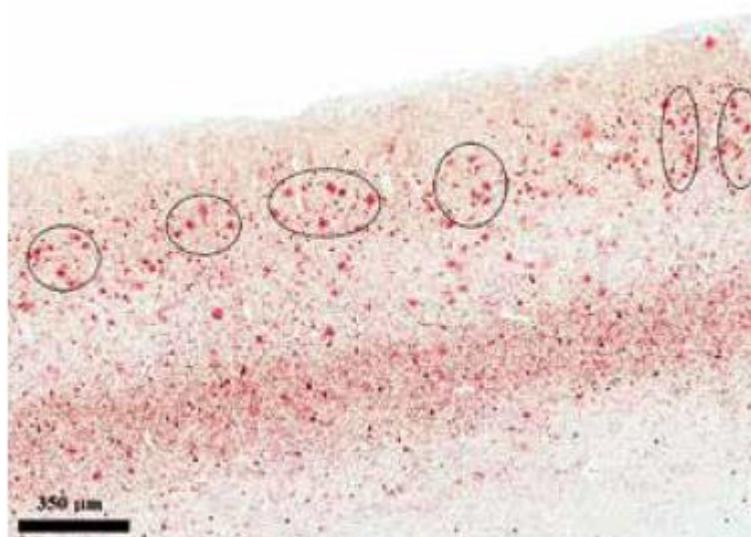
cortical. As populações de neurônios colinérgicos situados no prosencéfalo basal são um dos mais vulneráveis, dentre os corpos celulares, à formação de emaranhado neurofibrilar e degeneração neurofibrilar. Além disso, a diminuição da acetiltransferase está relacionada com o aumento de placas neuríticas nos cérebros post-mortem de pessoas com esta comorbidade, e até mesmo nos cérebros de pessoas saudáveis e cognitivamente intactas (CUELLO, CAVEDO, *et al.*, 2018).

#### 4.3.3.2 Placas Senis

Além da diminuição do volume cerebral, há outra característica muito importante da DA – a presença de placas amiloides no cérebro, causada pelo acúmulo de uma substância no córtex (CHEIGNON, TOMAS, *et al.*, 2017), a qual é observada na análise histopatológica da DA – agregados constituídos pelo peptídeo  $\beta$ -amilóide ( $\beta$ A). A agregação e posterior acúmulo desses peptídeos formam as chamadas placas senis (DE FALCO, CUKIERMAN, *et al.*, 2015).

A hipótese que envolve a cascata amiloide é baseada no peptídeo  $\beta$ A e/ou os produtos de clivagem da proteína precursora amiloide (APP), os quais são neurotóxicos e podem resultar na formação de placas senis e morte celular (DE FALCO, CUKIERMAN, *et al.*, 2015). Na Figura 6, pode ser observada a distribuição de acúmulo de  $\beta$ A presente no córtex frontal superior (circulado) no cérebro de um indivíduo com DA, principalmente na camada cortical superior.

**Figura 6 – Acúmulo de beta-amiloide no córtex frontal superior**



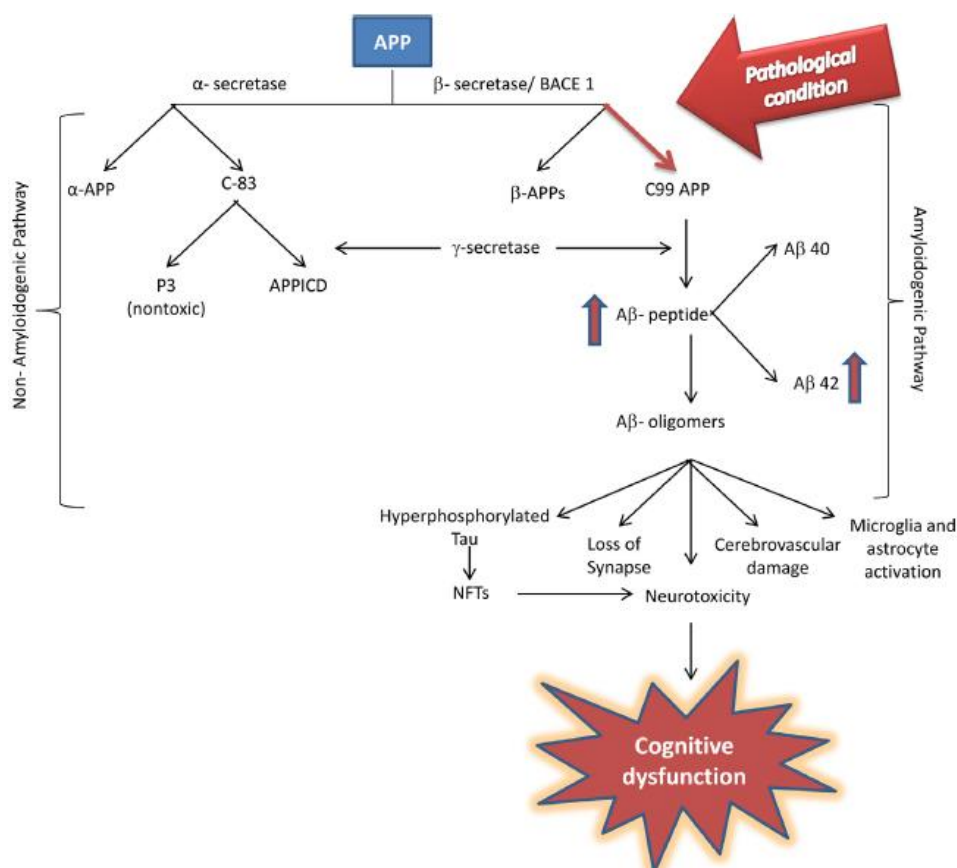


Fonte: ARMSTRONG, 2018 (adaptada).

Acredita-se que a APP, uma glicoproteína transmembranar, está envolvida no desenvolvimento cerebral, na plasticidade sináptica e na memória (CHEIGNON, TOMAS, *et al.*, 2017), e é uma das mais abundantes no SNC, sendo amplamente produzida por todos os tipos de células. A APP mais produzida pelos neurônios possui 695 aminoácidos, sendo também a mais expressa no cérebro (FILHO e MARTINS, 2018).

Conforme podemos observar na Figura 7, há duas vias no metabolismo da APP – o não amiloidogênico, predominante, onde a APP é primeiramente clivada pela  $\alpha$ -secretase e, posteriormente, pela  $\gamma$ -secretase, que resultará na formação de peptídeos 3 truncados e  $\alpha$ -APP secretada (sAPP $\alpha$ ) (CHEIGNON, TOMAS, *et al.*, 2017); e a segunda via de seu metabolismo é pela clivagem inicial da APP pela  $\beta$ -secretase, também conhecida como BACE1, com a subsequente clivagem da  $\gamma$ -secretase, gerando peptídeo  $\beta$ A 40/42, o qual causa neurotoxicidade, ativação da micróglia e dos astrócitos, perda de sinapse, hiperfosforilação da proteína tau, resultando nos danos envolvidos na DA. (KUMAR e SINGH, 2014).

**Figura 7 – Mecanismo de processamento da APP**



Fonte: KUMAR e SINGH, 2014 (adaptada).

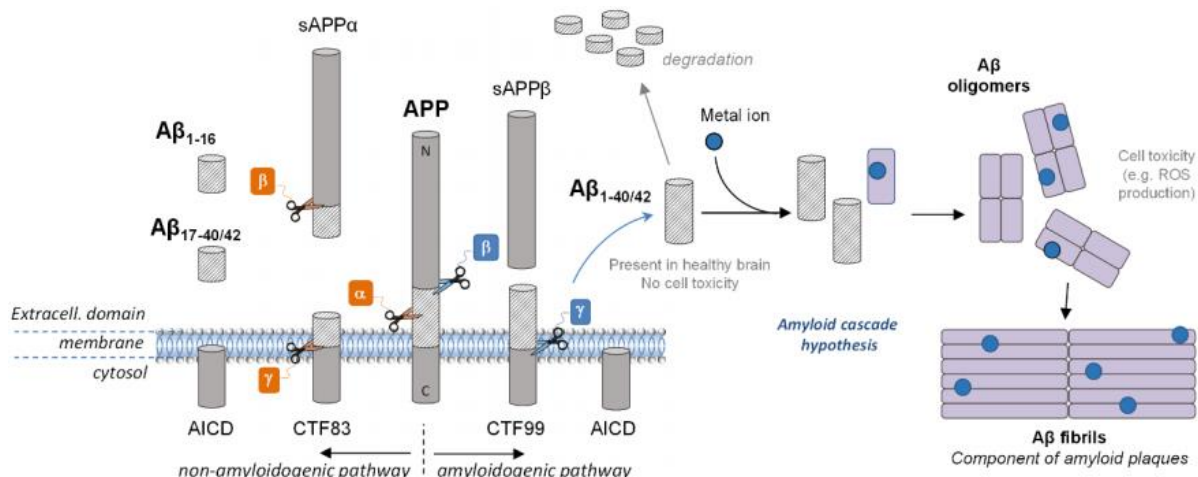
Legenda: non-toxic = não tóxico; Pathological condition = condição patológica; Aβ-peptide = peptídeo βA; Aβ-oligomers = oligômeros βA; Non-Amyloidogenic Pathway = Caminho Não-Amiloidogênico; Amyloidogenic Pathway = Caminho Amiloidogênico; Hyperphosphorylated Tau = Tau Hiperfosforilada; Loss of Synapse = Perda de Sinapses; Cerebrovascular damage = Dano cerebrovascular; Microglia and astrocyte activation = Ativação da microglia e astrócitos; Neurotoxicity = Neurotoxicidade; Cognitive dysfunction = Disfunção cognitiva.

O peptídeo α-APP é solúvel, e diversos estudos demonstraram seus efeitos benéficos pela proteção da toxicidade por peptídeos βA, pois inibe a β-secretase, proteção dos neurônios presentes no hipocampo contra excitotoxicidade, isquemia e lesão cerebral traumática (DURAND, CARNIGLIA, *et al.*, 2017). A Figura 8 demonstra o processo de clivagem da glicoproteína APP, conforme explicado anteriormente.

A segunda via, amiloidogênica, ocorre em menor grau, a APP é clivada pelas secretases consecutivamente, o que pode originar fragmentos hidrofóbicos de βA de diversos tamanhos. Quanto maior o fragmento, maior potencial amiloidogênico apresentará, originando as placas insolúveis (DE FALCO, CUKIERMAN, *et al.*, 2015).

Como resultado disso, há uma agregação dos peptídeos βA que serão eventualmente depositados em placas senis difusas (KUMAR e SINGH, 2014).

Figura 8 – Processo de Clivagem da APP



Fonte: CHEIGNON, TOMAS, *et al.*, 2017 (adaptada).

Legenda: extracell domain = domínio extracelular; membrane = membrana; cytosol = citosol; non-amyloidogenic pathway = caminho não-amiloidogênico; amyloidogenic pathway = caminho amiloidogênico; degradation = degradação; present in health brain = presente em cérebro saudável; no cell toxicity = não produz toxicidade celular; amyloid cascade hypothesis = hipótese da cascata amiloide; Aβ oligomers = oligômeros βA; cell toxicity = toxicidade celular; eg ROS production = produção de EROs; Aβ fibrils = fibrilas Ba; component of amyloid plaques = componente de placas amiloide.

Uma terceira via de clivagem da APP foi descoberta, a qual envolve a clivagens por secretases no aminoácido 504-505 na APP, levando à geração de fragmentos carboxi-terminais com massa molecular mais alta, os quais apresentaram neurotoxicidade (CHEIGNON, TOMAS, *et al.*, 2017).

É importante citar que a localização do gene que codifica a APP está no cromossomo 21, o qual está associado com a síndrome de Down. Pacientes que apresentam essa síndrome geralmente desenvolvem, por volta dos quarenta anos, aspectos neuropatológicos clássicos da DA (DE FALCO, CUKIERMAN, *et al.*, 2015).

O peptídeo βA é capaz de causar neurotoxicidade por produzir espécies reativas, pela interação com íons  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$ , produzindo oligômeros e fibrilas, os quais são observados nas placas senis *in vivo* (CHEIGNON, TOMAS, *et al.*, 2017). Além disso, esses peptídeos estão altamente relacionados ao dano oxidativo (GEMELLI, ANDRADE e CASTRO, 2013). Há evidências que mostram que a AchE estimula a agregação do peptídeo βA, a partir da formação de complexos neurotóxicos estáveis entre a enzima e o βA. Tais complexos podem induzir a desregulação de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular dependente de βA, nos neurônios do hipocampo, além de provocar disfunção mitocondrial e apoptose (ATANASOVA, STAVRAKOVA, *et al.*, 2015).

Apesar de placas agregadas de origem amiloide também serem detectadas em cérebros de idosos saudáveis, em pequenas quantidades, a formação deste peptídeo é considerada central na patologia da DA (DE FALCO, CUKIERMAN, *et al.*, 2015).

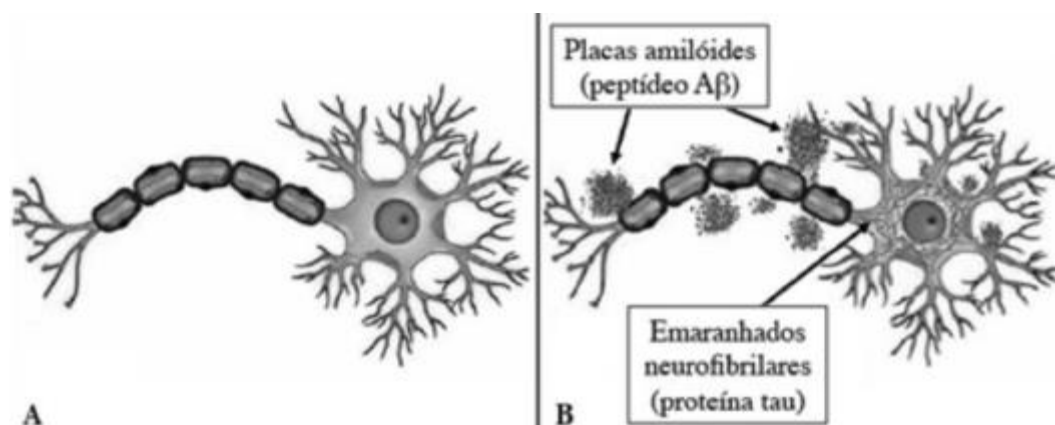
#### 4.3.3.3 Emaranhados Neurofibrilares

Foi possível concluir, por meio de análises imunocitoquímicas e bioquímicas realizadas dos emaranhados neurofibrilares, que outra proteína está envolvida na patologia da DA – a proteína tau. Esta, associada aos microtúbulos, é provavelmente a única subunidade que compõe os filamentos helicoidais emparelhados que são vistos nesses emaranhados, e participa da formação e estabilização do citoesqueleto microtubular (NIZYNSKI, DZWOLAK e NIEZNANSKI, 2017).

Esta proteína solúvel encontra-se hiperfosforilada nos casos de DA, o que acaba tornando-a um polímero insolúvel filamentoso altamente tóxico que desregula a cascata citoplasmática de fosforilações e desfosforilações (DE FALCO, CUKIERMAN, *et al.*, 2015).

Foi descoberto em 1983 que diversas proteínas quinases, como as dependentes de AMP cíclico e caseína tipo 1, poderiam fosforilar a proteína tau em diversos locais. A proteína tau fosforilada possui sua capacidade de formação de microtúbulos prejudicada (SIMIC, LEKO, *et al.*, 2015), e faz com que haja a realocação de tau para o compartimento somatodendrítico (CONGDON e SIGURDSSON, 2018), como podemos observar na figura 9. Há diversos estudos na literatura que indicam que o ativador da hiperfosforilação da proteína tau pode ocorrer devido ao acúmulo de  $\beta$ A. Porém, ainda há muito a ser descoberto sobre este processo (DE FALCO, CUKIERMAN, *et al.*, 2015). Segundo estudos, a interação de peptídeos  $\beta$ -amiloide com proteínas tau pode impulsionar a fosforilação e agregação excessiva das mesmas. A proteína tau se acumula nos espinhos dendríticos como consequência dessa interação, diminuindo a resposta sináptica. (POROWSKA, WASIK, *et al.*, 2014).

**Figura 9 – Diferença entre Neurônios de Pessoas Saudáveis (A) e de Pessoas Acometidas pela DA (B)**



Fonte: DE FALCO, CUKIERMAN, *et al.*, 2015 (adaptada).

O grau de fosforilação na proteína tau reflete a atividade alterada das proteínas quinases e fosfatases. Existem achados de tecido post-mortem do cérebro de pessoas com DA que revelaram aumento nos níveis de quinase 5 dependente de ciclina ativa (CDK5), indicando que ocorrem alterações na regulação de quinases ativas no cérebro (CONGDON e SIGURDSSON, 2018).

A principal quinase envolvida na patologia da DA é a glicogênio sintase quinase-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ), pois é capaz de fosforilar pelo menos 36 resíduos presentes a proteína tau. Além disso, foi demonstrado que a sinalização de GSK-3 $\beta$  *in vitro* é ativada por peptídeos  $\beta$ A, indicando que esta quinase pode ser a mediadora da ação amiloide na fosforilação da proteína tau e, conseqüentemente, na degeneração neurológica da DA (JAWORSKI, KASPER e GRALEC, 2019).

Outras doenças neurológicas também apresentam emaranhados neurofibrilares que possuem as proteínas tau fosforiladas, indicando que essas modificações no citoesqueleto podem tratar de uma resposta secundária a lesões cerebrais (DE FALCO, CUKIERMAN, *et al.*, 2015).

Atualmente, acredita-se que o papel da proteína amiloide  $\beta$  e da proteína tau correspondem a uma adaptação celular ao estresse oxidativo.

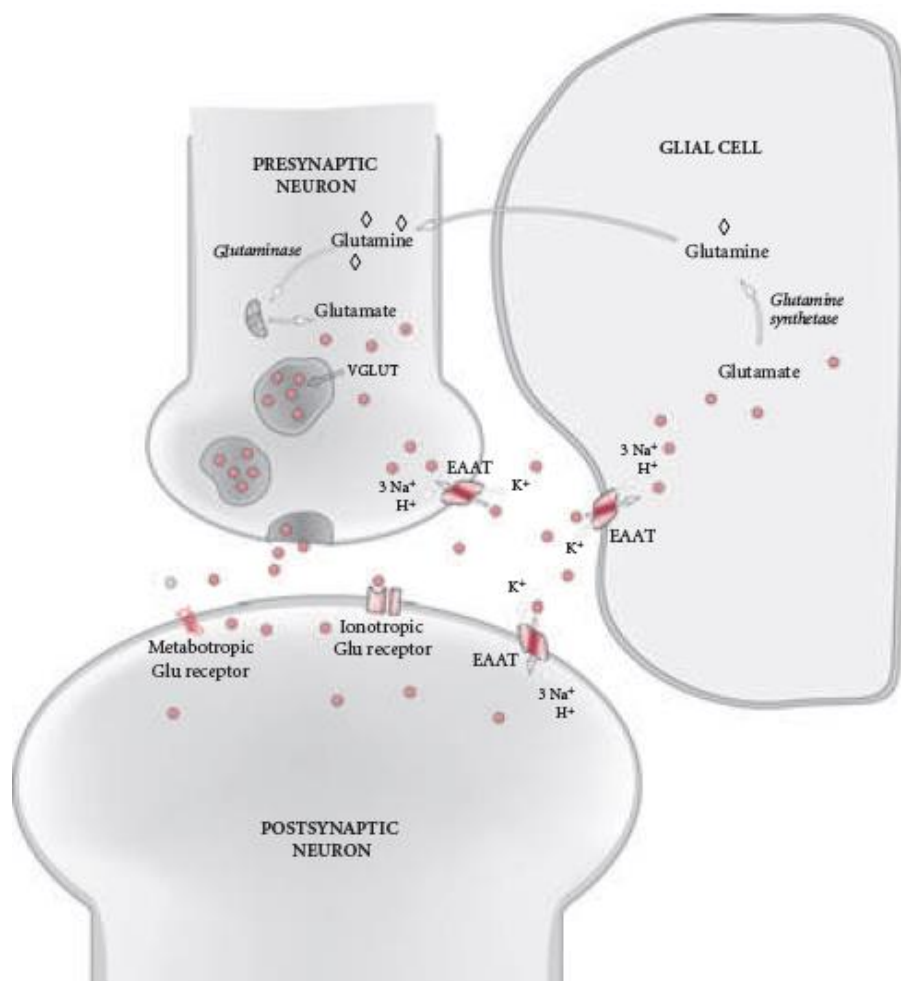
#### **4.3.3.4 Excitotoxicidade Mediada por Glutamato**

O glutamato é um aminoácido e principal neurotransmissor excitatório envolvido no SNC, conhecido por participar de diversas funções, como aprendizado e memória, crescimento e diferenciação neuronal, plasticidade e transmissão sináptica

(REVETT, BAKER, *et al.*, 2012). Também está envolvido em comorbidades, como epilepsia, depressão, ansiedade, doenças neurodegenerativas, tolerância e dependência de drogas, entre outros (JIA, NJAPO, *et al.*, 2015).

O glutamato é conhecido por não atravessar a barreira hematoencefálica, concluindo que o mesmo é sintetizado no tecido nervoso. Este aminoácido é o produto da transaminação do  $\alpha$ -cetoglutarato. As enzimas envolvidas, em seu metabolismo encontram-se nos neurônios e nas células da glia, como por exemplo a glutamina sintase, a qual catalisa a condensação de glutamato e amônia, formando glutamina, e a glutaminase, responsável pela geração de glutamato a partir de glutamina (HACKETT e UEDA, 2015), conforme pode ser observado na Figura 10.

**Figura 10 – Esquema da formação de glutamato e seus receptores, vesículas e transportadores**



Fonte: LEMKE, WILLIAMS, *et al.*, 2013 (adaptada).

Não há enzima que degrade esse aminoácido, ou que realize sua conversão bioquímica no espaço extracelular, então, para que sua concentração não atinja níveis

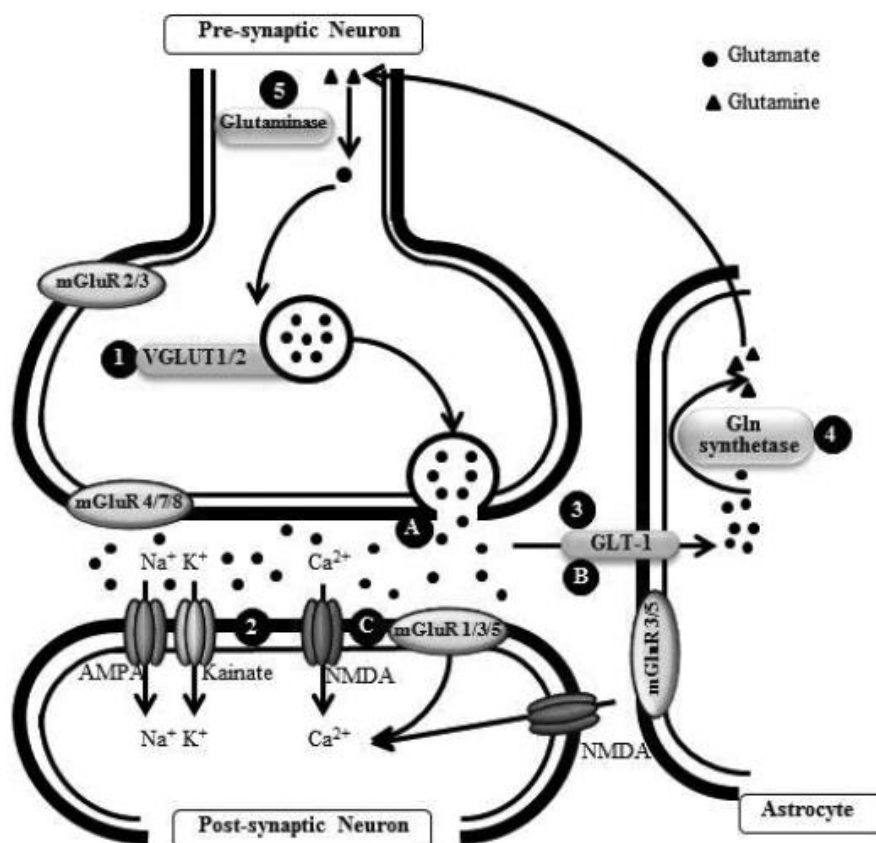
tóxicos, ele é removido do líquido extracelular por transportadores de aminoácidos excitatórios (EAATs), os quais são sistemas de recaptação eficientes que impedem a ativação excessiva dos receptores de glutamato, dependentes de um gradiente químico de íons sódio (ZHOU e DANBOLT, 2014). Além dos EAATs, há também os transportadores de glutamato vesicular, os quais podem ser observados na Figura 11.

Há cinco tipos de EAATs que se diferenciam conforme sua localização e função: transportadores de aspartato-glutamato (GLAST/EAAT1); os transportadores de glutamato (GLT/EAAT2); o mais distribuído no cérebro, encontrado em áreas não sinápticas, chamado de transportador de aminoácido excitatório 3 (EAAC/EAAT3); os transportadores de aminoácido excitatório 4 encontrados nas células de Purkinje (EAAC/EAAT4); e, por fim, os que estão localizados nos neurônios retinianos, EAAT5. À medida que estes transportadores são inibidos farmacologicamente, os níveis basais de glutamato extracelular aumentam consideravelmente, o que mostra que os EAATs são de extrema importância para a homeostase deste aminoácido (VALLI e SOBRINHO, 2014).

O papel do sistema glutamatérgico é manter controlada na fenda sináptica a concentração de glutamato, transformando impulsos nervosos em estímulos químicos (REVETT, BAKER, *et al.*, 2012). A excitotoxicidade é um fenômeno causado por estímulos excitatórios excessivos, os quais resultam em danos celulares e morte. A principal via de sinalização envolvida neste processo é a via glutamatérgica e sua funcionalidade sináptica (VALLI e SOBRINHO, 2014).

Há diferentes receptores nos quais o glutamato pode se ligar, após liberado na fenda sináptica, sendo eles os receptores metabotrópicos (mGluRs) e os receptores ionotrópicos (IGluRs) representados na Figura 11. Os mGluRs são acoplados a proteína G e liberam segundos mensageiros, gerando respostas pós-sinápticas mais lentas; enquanto os IGLuRs possuem três famílias: os receptores de NMDA, os alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropionico (AMPA) e os receptores de cainato (KA). Estes apresentam neurotransmissão rápida, uma vez que afetam o estado eletroquímico da membrana pós-sináptica por afetar diretamente no fluxo de íons ( $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  principalmente) (JIA, NJAPO, *et al.*, 2015).

Figura 11 – Esquema da liberação de glutamato e de seus receptores



Fonte: REVETT, BAKER, *et al.*, 2012 (adaptada).

Legenda: Glutamate = glutamato; glutamine = glutamina; post-synaptic neuron = neurônio pós-sináptico; astrocyte = astrócito; Gln synthetase = glutamina sintetase.

Em um terminal glutamatérgico há receptores AMPA, NMDA, metabotrópicos, canal de cálcio voltagem dependente (VDCC), bomba de sódio e potássio, bomba de sódio e cálcio, bomba de cálcio e um sistema de recaptação de glutamato.

Os receptores NMDA, quando comparados aos receptores AMPA e KA, possuem maior permeabilidade ao  $\text{Ca}^{2+}$ , o que os conferem maior relação com processos neurotóxicos (BRUSCO, BUENO-JÚNIOR, *et al.*, 2011). Uma vez que o glutamato é liberado na fenda sináptica, o AMPA é o primeiro receptor a ser ativado e sódio entra na célula, o qual despolariza a membrana.

Íons magnésio bloqueiam canais NMDA quando a membrana pós-sináptica se encontra em seu potencial de repouso, e isso faz com que o influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  seja impedido para o terminal pós-sináptico (BRUSCO, BUENO-JÚNIOR, *et al.*, 2011). Se a despolarização pela entrada de sódio for persistente, o que acontece na presença de glutamato extracelular, o magnésio é retirado do receptor e o VDCC é ativado. O resultado deste processo será a entrada de cálcio na célula.



O receptor metabotrópico, no entanto, é mais lento, pois é necessário ativar a fosfolipase C e a fosfatidil-inositol, formando trifosfato de inositol (IP3). O IP3 está acoplado à proteína Gq e uma vez formado, libera cálcio do retículo endoplasmático. O sódio é liberado da célula pela ativação das bombas sódio e potássio e sódio cálcio, enquanto que potássio e cálcio entram na célula. O influxo de cálcio é essencial para o entendimento da excitotoxicidade mediada pelo glutamato (LAU e TYMIANSKI, 2010).

A despolarização inibe o sistema de transportador de aminoácido excitatório, inibindo a recaptura de Glu. Como resultado disto, haverá mais glutamato livre para ativar o processo descrito até aqui. O glutamato media também a produção de óxido nítrico, o qual também está envolvido no dano neuronal, pois interagem com os receptores NMDA. Durante a ligação do glutamato aos NMDAs, o influxo de cálcio ativa NOS próximas, resultando na produção de NO, e este leva à formação de oxidantes, causando oxidação e nitratação de proteínas, danos no DNA e peroxidação lipídica (JIA, NJAPO, *et al.*, 2015).

O cálcio é considerado um segundo mensageiro e interfere em várias funções celulares, possibilitando-o de regular processos de multiplicação, sobrevivência e morte celular, este último sendo por necrose ou apoptose. Os neurônios são capazes de manter um equilíbrio da concentração e localização de cálcio intracelular na mitocôndria e no retículo endoplasmático, mediante a relação entre influxo, efluxo, captação e armazenamento deste íon (BRUSCO, BUENO-JÚNIOR, *et al.*, 2011).

Os principais mediadores do processo excitotóxico são os íons cálcio, que tem sua homeostase desregulada quando há liberação excessiva do glutamato, podendo resultar na morte celular. Em condições fisiológicas, este íon participa do crescimento celular, diferenciação e atividade sináptica. Estudos identificaram que em exposições baixas de glutamato, os íons cálcio são a maior causa de morte neuronal (ARUNDINE e TYMIANSKI, 2003).

Estudos afirmam que, com a ativação de receptores NMDA, o influxo de cálcio ativa diversas vias de sinalização intracelular, levando a modificações na eficácia sináptica. Levando em conta que receptores NMDA estão altamente envolvidos na potenciação a longo prazo (LTP), e este tem sido amplamente demonstrado em modelos de DA, mudanças na transmissão glutamatérgica mediada por NMDA estão relacionadas na fisiopatologia desta comorbidade (PRICKAERTS, VAN GOETHEM, *et al.*, 2017).

A LTP se aplica a uma mudança de longa duração na eficácia da transmissão sináptica, o qual pode ser dependente de NMDA. Este conceito está relacionado com aprendizado e memória e, para isso ocorrer, o neurônio pós-sináptico deve ser despolarizado após liberação do glutamato, o que resulta no influxo máximo de cálcio e ativa cascatas de sinalização intracelular (LÜSCHER e MALENKA, 2012).

Além disso, foram identificadas mudanças na expressão de transportadores de glutamato nos estágios iniciais da doença, os quais se mostram bem reduzidos, assim como na concentração de glutamina sintetase, o que impede que o glutamato retorne aos neurônios pré-sinápticos e explicaria as altas concentrações desse NT (ESPOSITO, BELLI, *et al.*, 2013). Outro processo que pode estar envolvido na DA são os altos níveis deste aminoácido nos astrócitos, indicando um risco de o glutamato voltar à fenda sináptica se as membranas sofrerem despolarização (REVETT, BAKER, *et al.*, 2012).

Diversos estudos afirmam que as placas senis podem induzir efeitos tóxicos do glutamato em estágios avançados da doença, anterior ao comprometimento da memória. Ou seja, a disfunção glutamatérgica pode ser vinculada como consequência da disfunção colinérgica. E, ainda, há evidências que a ativação de receptores nicotínicos presentes nos terminais pré-sinápticos do hipocampo e do córtex cerebral resulta no aprimoramento da transmissão glutamatérgica e esses receptores possuem alta afinidade aos peptídeos  $\beta A$ , levando à formação de complexos capazes de interferir negativamente na transmissão sináptica. (ESPOSITO, BELLI, *et al.*, 2013).

#### **4.4 Tratamentos farmacológicos**

Desde a descoberta da doença de Alzheimer, sempre houve um enorme esforço a fim de compreender melhor a sua fisiopatologia e os mecanismos envolvidos nesta doença, bem como avançar em seus tratamentos (ATANASOVA, STAVRAKOVA, *et al.*, 2015).

Na última década, grande parte da pesquisa envolvendo esta doença foi direcionada para um tratamento modificador da doença com o objetivo de alterar o rumo da mesma, ao invés de atuar apenas sobre os sintomas, sendo um grande desafio a ser enfrentado no desenvolvimento de um novo agente terapêutico (BRIGGS, KENNELLY e O'NEILL, 2016).

Grande parte dos estudos existentes avaliaram o tratamento com inibidores de colinesterase, centralizando em pacientes com doença leve a moderada (HOWARD, MCSHANE, *et al.*, 2012). Outros focos para o desenvolvimento de novos tratamentos são as proteínas  $\beta$ A e tau, vias glutamatérgicas, processos de excitotoxicidade, neuroinflamação, estresse oxidativo, entre outros (GODYN, JONCZYK, *et al.*, 2015). Há muitas questões em torno dos métodos utilizados nos estudos e da interpretação clínica dos benefícios relatados, porém, ainda assim há quem defenda o uso de um inibidor colinesterásico no tratamento da DA, mesmo que algumas sugerem a interrupção desses fármacos quando a doença se torna grave (HOWARD, MCSHANE, *et al.*, 2012).

#### 4.4.1 Inibidores Colinesterásicos

O uso de inibidores da colinesterase para a DA tem como base a hipótese do déficit colinérgico, com a estratégia de melhora da função sináptica colinérgica por elevar a concentração de acetilcolina na fenda sináptica, resultando no aumento da função dos receptores colinérgicos (GODYN, JONCZYK, *et al.*, 2015). Estudos *in vitro* mostraram, a partir do tecido cortical retiradas na autopsia de pacientes com DA, que essas moléculas podem aumentar a liberação de acetilcolina no cérebro (HOWARD, MCSHANE, *et al.*, 2012).

Há diversos domínios no sítio ativo da AChE humana recombinante, sítio este que está localizado na parte inferior e profunda da enzima e consiste nos domínios catalíticos Ser203, Glu334 e His447 e nos aromáticos Trp86, Tyr130, Tyr337 e Phe338, além dos resíduos que determinam a ligação seletiva da Ach, Phe295 e Phe297, entre outros. Pesquisas mostraram que o peptídeo  $\beta$ A se liga próximo ao sítio aniônico periférico presente na entrada da AChE, e que o bloqueio deste sítio impede a agregação de  $\beta$ A induzida por AChE (ATANASOVA, STAVRAKOVA, *et al.*, 2015). As interações podem envolver ligações de hidrogênio e  $\pi$ -stacking (SON, PARK, *et al.*, 2019).

Os inibidores da colinesterase (ChEIs) atualmente aprovados para a DA incluem donepezila, galantamina e rivastigmina, os quais possuem eficácia na progressão e sintomas da DA leve e moderada bem estabelecidas (MATSUNAGA, FUJISHIRO e TAKECHI, 2019). Esses medicamentos causam uma desaceleração

transitória na perda da função cognitiva ao diminuir a atividade da colinesterase, ou seja, não interrompem a progressão da demência (GODYN, JONCZYK, *et al.*, 2015).

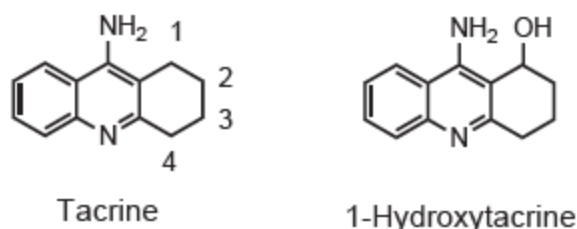
### **Tacrina**

O primeiro fármaco desenvolvido como inibidor colinesterásico foi a tacrina, muito limitada por apresentar hepatotoxicidade como evento adverso. A partir desta molécula, foram desenvolvidas a donepezila, galantamina e rivastigmina, sendo o primeiro o mais utilizado. A escolha dentre esses fármacos era baseada no custo, na tolerância individual e experiências médicas, uma vez que os mesmos possuem eficácia similar (BRIGGS, KENNELLY e O'NEILL, 2016).

A tacrina é da classe química acridina, um inibidor reversível das enzimas AchE e da butirilcolinesterase, aprovada em 1993 para o tratamento da DA leve a moderada (SAHOO, DANDAPAT, *et al.*, 2017). Apenas 20% dentre os pacientes que utilizam este fármaco apresentam melhora. Seu uso é altamente limitado por apresentar hepatotoxicidade, sendo que a tacrina e a rivastigmina são as mais tóxicas entre as moléculas para DA (LEMKE, WILLIAMS, *et al.*, 2013).

Ela é altamente metabolizada pelo CYP1A2, gerando os metabólitos 2, 3 e 4-hidroxi. O principal metabólito da tacrina e mais ativo, é a 1-hidroxitacrina, e todos os seus metabólitos são excretados pela urina (LEMKE, WILLIAMS, *et al.*, 2013). A 1-hidroxitacrina, ilustrada na figura 12 ao lado da molécula Tacrina, também exerce efeitos clínicos, inibindo a enzima.

**Figura 12 – Estrutura molecular da Tacrina (esquerda) e seu principal metabólito, a 1-hidroxitacrina**



Fonte: LEMKE, WILLIAMS, *et al.*, 2013 (adaptada).

A tacrina interage com uma região hidrofóbica nas enzimas, causando uma inibição alostérica reversível da AchE e butirilcolinesterase, impedindo a hidrólise da Ach e assim, aumentando a concentração de Ach nas sinapses (SAHOO, DANDAPAT, *et al.*, 2017).

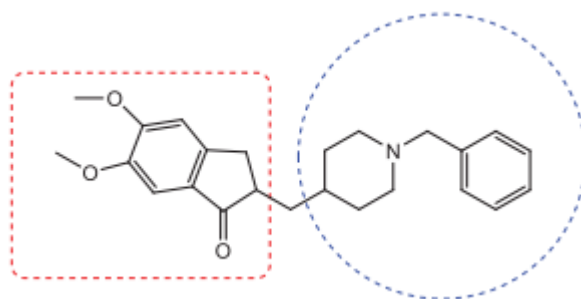
A dose diária mais alta recomendada era de 160 mg/dia, e foi mostrado que pacientes utilizando essa dose tiveram inibição de 60% da AchE nos glóbulos vermelhos e uma inibição de 40% da colinesterase no plasma (BRIGGS, KENNELLY e O'NEILL, 2016).

### ***Donepezila***

A donepezila foi aprovado em 1997 para o tratamento da DA, sendo outro fármaco de ação reversível e não competitivo. Sua seletividade se mostra muito mais acentuada para AchE do que para a enzima butirilcolinesterase, sendo de 570 a 1.250 vezes maior. Ainda, possui maior afinidade pela AchE cerebral do que pela periférica e, quando comparada à tacrina, é mais seletiva para a enzima no SNC, além de ter meia-vida de eliminação mais longa e quase nenhum efeito hepatotóxico (LEMKE, WILLIAMS, *et al.*, 2013). Sua estrutura molecular pode ser observada na Figura 13.

Por apresentar relação dose-reposta, em 2010 foi aprovado nos Estados Unidos o aumento da dose de donepezila para 23 mg por comprimido com formulação de liberação prolongada, para uso em pacientes com DA moderada a severa. A dose anterior era de 5 a 10 mg com capacidade de inibir de 20 a 40% da colinesterase (LEE, JEONG, *et al.*, 2015).

**Figura 13 – Estrutura molecular da Donepezila**



Fonte: PIEMONTESE, TOMÁS, *et al.*, 2018 (adaptada).

A donepezila apresenta como eventos adversos esperados os gastrointestinais, fadiga e câibras musculares.

Um estudo concluiu, após analisar e comparar dados de 30 estudos de pesquisa clínica envolvendo 8257 participantes, que após uma média de 26 semanas com tratamento do fármaco donepezila comparado ao placebo, foi observado resultados positivos para a função cognitiva medida através da escala de avaliação da doença de Alzheimer, bem como na pontuação no MEEM e na Bateria de Impedimento Grave (SIB). Porém, não mostrou melhora pelo NPI, pela Patologia Comportamental da DA e na qualidade de vida. Foi realizada a comparação de doses, sendo que a dose de 5 mg comparada com 10 mg apresentou função cognitiva no ADAS-Cog, mas não no MMSE e SIB; e também entre doses de 10mg e 23mg, onde nesta última, os participantes apresentaram mais efeitos adversos (BIRKS e HARVEY, 2018).

Um estudo randomizado, multicêntrico realizado na Coreia do Sul com duração de 12 semanas avaliou a segurança e tolerabilidade de donepezila administrada a 23 mg em 110 pacientes com DA moderada a grave, que faziam uso de dose menor anteriormente (10 mg ou 15 mg). Foram divididos em três grupos, sendo que a dose nos dois primeiros grupos foi aumentada para 23 mg somente após 4 semanas, totalizando 8 semanas de uso de 23 mg, e o terceiro grupo iniciou o estudo com 23 mg até sua conclusão. Os resultados mostraram maior segurança e menos eventos adversos para os participantes que utilizaram doses menores no começo, sendo que os pacientes que utilizaram 23 mg desde o início apresentaram anorexia e náusea, além de sintomas gastrointestinais já inerentes desse fármaco (HONG, HAN, *et al.*, 2019).

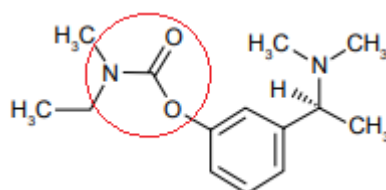
Por fim, um estudo realizado com 86 pacientes com DA mostrou melhora significativa dos de alguns sintomas comportamentais, como irritabilidade, agitação, ansiedade, desinibição e delírios. Pode, ainda, haver uma piora comportamental com a retirada deste fármaco (CUMMINGS, LAI, *et al.*, 2015).

As evidências mostradas até agora, retiradas dos estudos mencionados, mostram que a donepezila é eficaz no tratamento de Alzheimer em relação à melhora de alguns sintomas. Os resultados de análises de diversos estudos sugerem que o uso de donepezila reduz a piora, ou seja, os pacientes apresentam um declínio menor e mais lento do que o esperado (WILKINSON, SCHINDLER, *et al.*, 2009), embora ainda haja controvérsias.

### ***Rivastigmina***

A rivastigmina, ao contrário da donepezila e da galantamina, é um inibidor das duas colinesterases, AchE e BuChE, pseudo-reversível, com a presença de um carbamato em sua molécula, porção mais estável hidroliticamente do que um éster (KANDIAH, PAI, *et al.*, 2017), e desta forma, é capaz de inibir a AchE por até dez horas, apresentando o maior tempo de ação em comparação com os outros fármacos. A partir do perfil farmacocinético, foi observado que o adesivo transdérmico fornece uma administração mais contínua e suave, resultando em menos efeitos colaterais (LEMKE, WILLIAMS, *et al.*, 2013). A Figura 14 mostra a molécula de rivastigmina e seu carbamato circulado em vermelho, o qual se liga fortemente à enzima por uma ligação covalente à serina, bloqueando a ação catalítica da mesma:

Figura 14 – Estrutura molecular da Rivastigmina



Fonte: KANDIAH, PAI, *et al.*, 2017 (adaptada).

Com o objetivo de elucidar a segurança e efetividade dos fármacos donepezila, galantamina, rivastigmina e memantina na DA, um estudo de 2019 realizou uma revisão sistemática e metanálise dos mesmos, para que pudessem determinar quais as diferenças nos efeitos desses medicamentos em relação a alguns sintomas envolvidos na doença. Sendo assim, a rivastigmina e galantamina apresentaram resultados comportamentais questionáveis em pacientes com DA leve a moderada a grave, bem como a memantina. No entanto, a donepezila exibiu uma eficácia significativa na cognição, função e comportamento dos pacientes (LI, ZHANG, *et al.*, 2019).

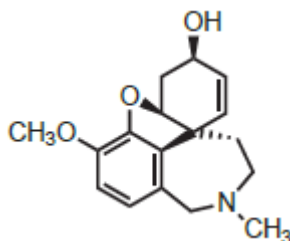
### **Galantamina**

A galantamina é caracterizada como um inibidor reversível da AChE, sem ação na BuChE, e possui, em receptores nicotínicos, ação de modulação alostérica. Sua

dose inicial é de 4 mg, 2 vezes ao dia, podendo ser aumentada para 12 mg 2 vezes/dia (ENGELHARDT, BRUCKI, *et al.*, 2005).

Como podemos ver na Figura 15, a molécula da galantamina dispõe de uma amina terciária, fazendo com que ela seja capaz de atravessar a barreira hematoencefálica.

**Figura 15 – Estrutura molecular da Galantamina**



Fonte: (LEMKE, WILLIAMS, *et al.*, 2013)

Foi observado, em um estudo conduzido em pacientes com DA leve a moderada, que a galantamina promoveu uma estabilidade nos distúrbios envolvidos na doença analisados pelo NPI, enquanto que os pacientes tratados com placebo demonstraram um declínio basal nos sintomas analisados (WILKINSON, FRANCIS, *et al.*, 2004).

No entanto, também há muitos estudos que avaliaram os efeitos de donepezila, rivastigmina e galantamina, utilizando ensaios controlados com placebo, nos sintomas comportamentais e psicológicos da DA e concluíram que os tratamentos utilizados na doença ainda são limitados, em parte por motivos metodológicos (CUMBO e LIGORI, 2013).

A tabela 1 abaixo resume as doses iniciais e de manutenção dos fármacos aprovados:

**Tabela 1 – Doses respectivas aos inibidores da colinesterase**

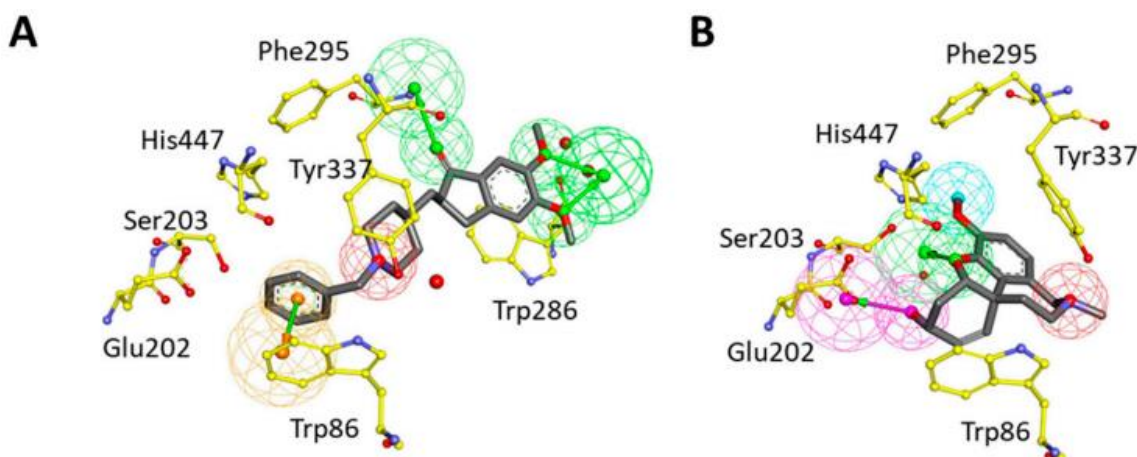
Fármaco	Dose inicial	Dose de manutenção
donepezil	5 mg - 1 vez ao dia	5 a 10 mg - 1 vez ao dia
rivastigmina	1,5 mg - 2 vezes ao dia	3 a 6 mg - 2 vezes ao dia
galantamina	4 mg - 2 vezes ao dia	8 a 12 mg - 2 vezes ao dia

Fonte: ENGELHARDT, BRUCKI, *et al.*, 2005 (adaptada).



Levando em consideração as estruturas moleculares da donepezila e da galantamina mostradas anteriormente, as interações entre a enzima AChE e os inibidores mencionados podem ser observadas na Figura 16 abaixo, expondo os resíduos farmacofóricos envolvidos em amarelo.

**Figura 16 – Modelos de relação estrutura-atividade entre AChE e (A) Donepezila e (B) Galantamina**



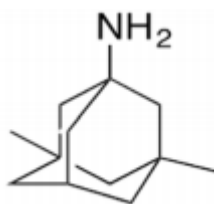
Fonte: SON, PARK, et al., 2019 (adaptada).

#### 4.4.2 Antagonista de NMDA – Memantina

A memantina é um fármaco antagonista não-competitivo voltagem-dependente do receptor NMDA (SESTITO, DANIELE, *et al.*, 2019), portanto, interfere a excitotoxicidade glutamatérgica e pode também melhorar os efeitos da doença agindo nos neurônios do hipocampo. Como os inibidores colinesterásicos, a memantina não é capaz de curar, e sim atrasar o aparecimento dos sintomas e perda funcional (PORTH e MATFIN, 2010).

Em outras palavras, a memantina bloqueia os efeitos causados pelos altos níveis de glutamato responsável pela disfunção neuronal. Além disso, esse fármaco é capaz de regular positivamente a expressão do receptor NMDA (KISHI, MATSUNAGA, *et al.*, 2017). Sua estrutura molecular está representada na Figura 17, abaixo.

Figura 17 – Estrutura molecular da Memantina



Fonte: SESTITO, DANIELE, et al., 2019 (adaptada).

Resultados de um estudo conduzido em 80 participantes, os quais foram divididos em grupo placebo e os que receberam a medicação combinada, mostraram que a memantina administrada com citalopram, um fármaco antidepressivo da classe dos inibidores seletivos de recaptação de serotonina, pode mostrar mais eficácia no tratamento de alguns sintomas da DA, como agitação, apatia, disforia, ansiedade e angústia, e até mesmo a função cognitiva. O estudo foi baseado em evidências do citalopram ser capaz de reduzir a formação de peptídeos  $\beta$ A (ZHOU, WANG, *et al.*, 2018).

Um estudo analisou os efeitos da memantina pela comparação da base de dados de dois ensaios clínicos, sendo eles: um estudo de 28 semanas em 252 participantes com DA severa, os quais receberam 20 mg/dia de memantina ou placebo; e um estudo de 24 semanas realizado em 404 pacientes com DA moderada a grave em tratamento com donepezila por 6 meses com dose de 5 a 10 mg/dia e que receberam memantina (20 mg/dia) ou placebo durante todo o estudo. Os resultados, baseados na análise do NPI, mostraram que a memantina apresenta benefícios bastante pronunciados em diversos sintomas neuropsiquiátricos associados à DA, especialmente agitação e agressão. (GAUTHIER, WIRTH e MOBIUS, 2005).

Outro estudo realizou uma meta-análise na qual mostrou que há uma tendência na escolha da terapia com memantina combinada com um inibidor colinesterásico em comparação à monoterapia com esses inibidores, em pacientes com DA moderada a grave. O resultado dessa meta-análise mostrou que a administração de memantina, comparada com administração de placebo, produz uma melhora significativa nos resultados de eficácia dos estudos analisados. (KISHI, MATSUNAGA, *et al.*, 2017).

## 5 CONCLUSÃO

Há inúmeros mecanismos envolvidos na fisiopatologia de Alzheimer, os quais parecem estar altamente relacionados, sendo difícil definir qual é o mais relevante envolvido na doença. Desse modo, a pesquisa por novas moléculas pode ser baseada em abordagens terapêuticas bastante diferentes.

Os tratamentos existentes atualmente possuem pouca diferença de efetividade entre si, sendo a maioria fundamentada em uma ação terapêutica – a hipótese colinérgica. O foco de pesquisa de novas moléculas com base em outros mecanismos envolvidos, além da colinérgica, poderia ser bastante promissor, tendo como objetivo principal o tratamento dos fatores que causam da doença, e não apenas baseados nos sintomas que a mesma apresenta.

Além disso, para o desenvolvimento racional de novas drogas, é necessário que se tenha conhecimento de diversas áreas da ciência e não apenas da fisiopatologia. Ou seja, deve-se abranger a interdisciplinaridade, a fim de combinar conhecimento da área de química medicinal, bioquímica, biológica, toxicológica, física, o que permite uma clareza íntegra dos mecanismos implicados na comorbidade, resultando em terapias mais efetivas. Por exemplo, um achado muito relevante para a pesquisa de novas moléculas é o da interação do peptídeo  $\beta$ -amiloide próximo ao sítio aniônico periférico da enzima acetilcolinesterase, sítio este que, quando bloqueado, impossibilita o acúmulo de  $\beta$ A induzida pela enzima. Essa descoberta necessitou de conhecimentos interdisciplinares e pode ser um caminho muito promissor para o desenvolvimento de novos tratamentos.

O cérebro é altamente regulado e compreender os mecanismos envolvidos que resultam no desequilíbrio de suas funções também pode ser uma peça chave para novas descobertas nessa área. Além disso, isso possibilitaria a descoberta e produção de novos fármacos, nos tornando mais próximos de uma possível cura.

Conhecendo os fatores de riscos envolvidos nessa doença, é possível que haja meios de evitar sua rápida progressão, caso alguém venha a ser acometido por ela, ou até mesmo evitar seu aparecimento. Por exemplo, pelo consumo de alimentos saudáveis, como antioxidantes, responsáveis por combater os radicais livres do organismo, os quais estão altamente envolvidos na fisiopatologia da DA, o hábito de aprender assuntos novos, línguas ou instrumentos, envolvidos na plasticidade cerebral, e até mesmo a prática de esportes, para que ajude na imunidade e combata o estresse. Essas abordagens farão com que nosso organismo seja uma máquina regulada pelo estilo de vida saudável.

Ainda há muito o que ser explorado acerca das alterações fisiológicas e biológicas envolvidas nesta patologia, bem como das interações que cada processo possui entre si. O avanço no conhecimento dessa e outras doenças que acometem o sistema nervoso central é de extrema importância, já que muitas não apresentam cura, e sim apenas tratamentos que funcionam de curto a médio prazo, inibindo alguns sintomas.

## BIBLIOGRAFIA

1. AGOSTINHO, P. et al. Localization and trafficking of amyloid- $\beta$  protein precursor and secretases: impact on alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, 45, n. 2, 10 Dezembro 2014. 329-47.
2. AKZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL. **World Alzheimer Report 2018, The State Of The Art Of Dementia Research: New Frontiers**. Londres, Inglaterra. 2018.
3. ALZHEIMER'S ASSOCIATION. 2019 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia - The Journal of The Alzheimer's Association**, EUA, 15, n. 3, Março 2019. 321-387.
4. ARMSTRONG, R. A. A comparison of the spatial patterns of  $\beta$ -amyloid ( $A\beta$ ) deposits in five neurodegenerative disorders. **Folia Neuropathologica**, Birmingham, v. 56, n. 4, p. 284-292, Dezembro 2018.
5. ARUNDINE, M.; TYMIANSKI, M. Molecular mechanisms of calcium-dependent neurodegeneration in excitotoxicity. **Cell Calcium**, 34, Mai 2003. p.325–337.
6. ATANASOVA, M. et al. Galantamine derivatives with indole moiety: docking, design, synthesis and acetylcholinesterase inhibitory activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 17, p. 5382-9, Setembro 2015.
7. BARHA, C. K.; NAGAMATSU, L. S. . L.-A. T. Basics of neuroanatomy and neurophysiology. **Handbook of Clinical Neurology**, v. 138, p. 53-68, 2016.

8. BIRKS, J. S.; HARVEY, R. J. Donepezil for dementia due to Alzheimer's disease. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, Oxford, 18 Junho 2018. 1-349.
9. BRIGGS, R.; KENNELLY, S. P.; O'NEILL, D. Drug treatments in Alzheimer's disease. **Clinical Medicine**, Londres, v. 16, n. 3, p. 247-53, 2016.
10. BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. 12ª Edição. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012. ISBN 978-85-8055-117-4.
11. BRUSCO, J. et al. Neurotransmissão glutamatérgica e plasticidade sináptica: aspectos moleculares, clínicos e filogenéticos. **Glutamatergic neurotransmission and synaptic plasticity: molecular, clinical, and phylogenetic aspects**, Ribeirão Preto, Brasil, 20 Maio 2011. 56-143.
12. BUDSON, A. E.; SOLOMON, P. R. **Evaluating the patient with memory loss or dementia**. 2. ed. Philadelphia: Elsevier - Health Sciences Division, v. 2, 2017. 5-38 p.
13. CERQUERA-JARAMILLO, M. A. et al. Visual features in Alzheimer's disease: from basic mechanisms to clinical overview. **Neural Plasticity**, Bogotá, 2018, 14 Outubro 2018. 1-21.
14. CHEIGNON, C. et al. Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's Disease. **Redox Biology**, Toulouse, v. 14, p. 450-464, Outubro 2017.
15. CHEN, W.; HUANG, W.; ZHANG, X. Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (Review), China, 13, 29 Fevereiro 2016. 3391-3396.
16. CONGDON, E. E.; SIGURDSSON, E. M. Tau-targeting therapies for Alzheimer disease. **Nature Reviews Neurology**, v. 14, n. 7, p. 399–415, Julho 2018.
17. CORRÊA-VELLOSO, J. C. et al. Pathophysiology in the comorbidity of bipolar disorder and Alzheimer's disease: pharmacological and stem cell approaches.

**Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry**, São Paulo, 28 Abril 2017. 34-53.

18. CUELLO, A. C. et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. **Brain - A Journal of Neurology**, Paris, 141, n. 7, 29 Maio 2018. 1917-1933.
19. CUMBO, E.; LIGORI, L. D. Differential effects of current specific treatments on behavioral and psychological symptoms in patients with alzheimer's disease: a 12-month, randomized, open-label trial. **Journal of Alzheimer's Disease**, 39, Setembro 2013. 477–485.
20. CUMMINGS, J. et al. Role of Donepezil in the Management of Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer's Disease and Dementia with Lewy Bodies. **CNS - Neuroscience & Therapeutics**, 22, 23 Outubro 2015. 159–166.
21. DE FALCO, A. et al. Doença de Alzheimer: hipóteses etiológicas e perspectivas de tratamento. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, p. 63-80, Agosto 2015.
22. DE MELO, D. M.; BARBOSA, A. J. G. O uso do Mini-Exame do estado mental em pesquisas com idosos no Brasil: uma revisão sistemática. **Ciência e Saúde Coletiva**, Juiz de Fora, 20, n. 12, 18 Julho 2015. 3865-3876.
23. DURAND, D. et al. Amyloid-beta neurotoxicity and clearance are both regulated by glial group II metabotropic glutamate receptors. **Neuropharmacology**, p. 274-286, Setembro 2017.
24. ENGELHARDT, E. et al. Tratamento da doença de Alzheimer - recomendações e sugestões do Departamento Científico de Neurologia Cognitiva e do Envelhecimento da Academia Brasileira de Neurologia. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 63, n. 4, p. 1104-1112, Julho 2005.
25. ESPOSITO, Z. et al. Amyloid b, glutamate, excitotoxicity in Alzheimer's disease: are we on the right track? **CNS Neuroscience and Therapeutics**, 19, 8 Fevereiro 2013. 549–555.

26. FARLEY, A. et al. Nervous system: part 1. **Nursing Standard**, v. 28, n. 31, p. 46-51, 30 Dezembro 2014.
27. FERREIRA-VIEIRA, T. H. et al. Alzheimer's Disease: targeting the cholinergic system. **Current Neuropharmacology**, Belo Horizonte, 14, n. 1, 2016. 101-115.
28. FILHO, J. D. A. D. O.; MARTINS, J. R. N. Biologia molecular da doença de Alzheimer. **Revista da Biologia**, João Pessoa, 18, Novembro 2018. 24-30.
29. GAUTHIER, S.; WIRTH, Y.; MOBIUS, H. J. Effects of memantine on behavioural symptoms in Alzheimer's disease patients: an analysis of the Neuropsychiatric Inventory (NPI) data of two randomised, controlled studies. **Internation Journal of Geriatric Psychiatry**, 20, 14 Fevereiro 2005. 459–464.
30. GEMELLI, T.; ANDRADE, R. B. D.; CASTRO, A. L. Estresse Oxidativo como Fator Importante na Fisiopatologia da Doença de Alzheimer. **Uniará**, Porto Alegre, Brasil, v. 16, Julho 2013.
31. GITLER, A.; DHILLON, P.; SHORTER, J. Neurodegenerative disease: models, mechanisms, and a new hope. **Disease Models & Mechanisms**, 10, n. 5, Maio 2017. 499-502.
32. GODYN, J. et al. Therapeutic strategies for Alzheimer's disease in clinical trials. **Pharmacological Reports**, v. 68, p. 127-138, Julho 2015.
33. HACKETT, J. T.; UEDA, T. Glutamate Release. **Neurochemical Research**, v. 40, n. 12, p. 2443-60, 20 Maio 2015.
34. HONG, Y. J. et al. Safety and tolerability of donepezil 23 mg with or without intermediate dose titration in patients with Alzheimer's disease taking donepezil 10 mg: a multicenter, randomized, open-label, parallel-design, three-arm, prospective trial. **Alzheimer's Research & Therapy**, v. 11, Maio 2019.
35. HOWARD, R. et al. Donepezil and Memantine for Moderate-to-Severe Alzheimer's Disease. **The new england journal of medicine**, Inglaterra, Março 2012.

36. HYND, M. R.; SCOTT, H. L.; DODD, P. R. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. **Neurochemistry International**, v. 45, p. 583-595, Março 2004.
37. JAWORSKI, T.; KASPER, E. B.; GRALEC, K. GSK-3 $\beta$  at the intersection of neuronal plasticity and neurodegeneration. **Neural Plasticity**, Warsaw, 2 Maio 2019. 1-14.
38. JIA, M. et al. Taming glutamate excitotoxicity: strategic pathway modulation. **CNS Drugs**, 29, n. 2, 30 Janeiro 2015. 153–162.
39. KANDIAH, N. et al. Rivastigmine: the advantages of dual inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase and its role in subcortical vascular dementia and Parkinson's disease dementia. **Clinical Interventions in Aging**, Cingapura, v. 12, 18 abr. 2017. 697–707.
40. KISHI, T. et al. Memantine for Alzheimer's disease: an updated systematic review and meta-analysis. **Journal of Alzheimer's Disease**, 60, 7 Julho 2017. 401–425.
41. KUMAR, A.; SINGH, A. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. **Pharmacological Reports**, Chandigarh, India, n. 67, p. 195-203, Setembro 2014.
42. KUMAR, V. et al. **Robbins & Cotran: Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. 8ª Edição. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
43. LAU, A.; TYMIANSKI, M. Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. **Pflügers Archiv: European Journal of Physiology**, 2, 18 Fevereiro 2010. 525–542.
44. LEE, J. H. et al. Donepezil across the spectrum of Alzheimer's disease: dose optimization and clinical relevance. **Acta Neurologica Scandinavica**, Seul, v. 131, n. 5, p. 259-67, jan. 2015.

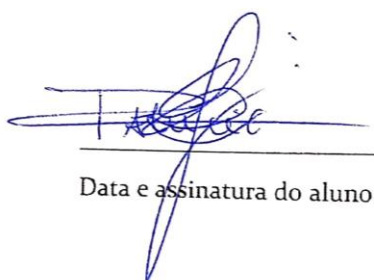


45. LEMKE, T. L. et al. **Foye's Principles of Medical Chemistry**. 7ª Edição. ed. Filadélfia, EUA: Wolters Kluwer | Lippincott Williams & Wilkins, 2013. ISBN 978-1609133450.
46. LI, D.-D. et al. Meta-Analysis of randomized controlled trials on the efficacy and safety of donepezil, galantamine, rivastigmine, and memantine for the treatment of Alzheimer's disease. **Frontiers in Neuroscience**, Shenyang, v. 13, mai. 2019. Artigo 472.
47. LÜSCHER, C.; MALENKA, R. C. NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD). **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, 4, n. 6, 1 Junho 2012. 1-15.
48. LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. **Chemico-Biological Interactions**, 224, 5 Dezembro 2014. 164-75.
49. MATSUNAGA, S.; FUJISHIRO, H.; TAKECHI, H. Efficacy and safety of cholinesterase inhibitors for mild cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Alzheimer's Disease**, Toyooka, 71, n. 2, 9 jul. 2019. 513-523.
50. NERI, A. L.; DE MELO, D. M.; BARBOSA, J. G. Miniexame do estado mental: Evidências de validade baseadas na estrutura interna. **Instituto Brasileiro de Aplicação Psicológica**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 161-168, jan. 2017.
51. NIZYNSKI, B.; DZWOLAK, W.; NIEZNANSKI, K. Amyloidogenesis of tau protein. **Protein Science** 2017, Varsóvia, v. 26, p. 2126–2150, ago. 2017.
52. OLIVARES-BAÑUELOS, T. N.; CHÍ-CASTAÑEDA, D.; ORTEGA, A. Glutamate transporters: Gene expression regulation and signaling properties. **Neuropharmacology**, Baixa Califórnia, fev. 2019.
53. PICCIOTTO, M. R.; HIGLEY, M. J.; MINEUS, Y. S. Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. **Neuron**, v. 76, n. 1, p. 116-29, 4 Outubro 2012.

54. PIEMONTESE, L. et al. Donepezil structure-based hybrids as potential multifunctional anti-Alzheimer's drug candidates. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, Lisboa, v. 33, n. 1, p. 1212–1224, jun. 2018.
55. POPRAC, P. et al. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. **Trends in Pharmacological Sciences**, 38, n. 7, Julho 2017. 1-16.
56. POROWSKA, A. M. et al. Tau protein modifications and interactions: Their role in function and dysfunction. **International Journal of Molecular Sciences**, Varsóvia, v. 15, p. 4671-4713, mar. 2014.
57. PORTH, C. M.; MATFIN, G. **Fisiopatologia**. 8ª edição. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v. 1 e 2, 2010.
58. PRICKAERTS, J. et al. Physiological and pathological processes of synaptic plasticity and memory in drug discovery: Do not forget the dose-response curve. **European Journal of Pharmacology**, Catânia, v. 817, 30 mai. 2017. p. 59-70.
59. RADI, R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. **PNAS Latest Articles**, Montevideu, v. 115, 21 mai. 2018. p. 5839-5845.
60. RAHMAN, K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. **Clinical Interventions in Aging**, Liverpool, v. 2, jun. 2007. p. 219-236.
61. REVETT, T. J. et al. Glutamate system, amyloid  $\beta$  peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology. **Journal of Psychiatry and Neuroscience**, Edmonton, v. 38, n. 1, mai. 2012. p. 6-23.
62. SAHOO, A. K. et al. Features and outcomes of drugs for combination therapy as multi-targets strategy to combat Alzheimer's disease. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 215, p. 42-73, dez. 2017.
63. SESTITO, S. et al. Memantine prodrug as a new agent for Alzheimer's disease. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-11, 22 Fevereiro 2019. ISSN 4612.

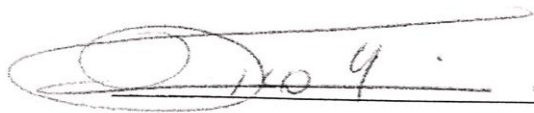
64. SIMIC, G. et al. Tau protein hyperphosphorylation and aggregation in Alzheimer's disease and other tauopathies, and possible neuroprotective strategies. **Biomolecules**, v. 6, p. 1-28, dez. 2015.
65. SON, M. et al. Discovery of novel acetylcholinesterase inhibitors as potential candidates for the treatment of Alzheimer's disease. **Internation Journal of Molecular Sciences**, 20, n. 4, 21 Fevereiro 2019. 1-15.
66. TAVARES, R. G. **Modulação do Sistema Glutamatérgico: Estudo dos Efeitos do Ácido Quinolínico e dos Derivados da Guanina**, fev. 2005.
67. VALKO, M. et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, 160, 20 Dezembro 2005. 1-40.
68. VALLI, L. G.; SOBRINHO, J. D. A. Mecanismo de ação do glutamato no sistema nervoso central e a relação com doenças neurodegenerativas. **Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria**, Jundiaí, abr. 2014. p. 58-67.
69. VENTURA, A. L. M. et al. Sistema colinérgico: revisitando receptores, regulação e a relação com a doença de Alzheimer, esquizofrenia, epilepsia e tabagismo. **Revista de Psiquiatria Clínica**, Niterói, 13 mai. 2009.
70. WILKINSON, D. et al. Effectiveness of donepezil in reducing clinical worsening in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders**, v. 28, 29 jul. 2009. p. 244–251.
71. WILKINSON, D. G. et al. Cholinesterase inhibitors used in the treatment of Alzheimer's disease - the relationship between pharmacological effects and clinical efficacy. **Drugs Aging**, v. 21, n. 7, p. 453-478, jun. 2004.
72. WOLF, S. A.; BODDEKE, H. W. G. M.; KETTENMANN, H. Microglia in physiology and disease. **Annual Review of Physiology**, Berlin, v. 79, mar. 2017. p. 19.1-19.25.

73. ZHANG, D. et al. Targeting glutamatergic and cellular prion protein mechanisms of amyloid  $\beta$ -mediated persistent synaptic plasticity disruption: Longitudinal studies. **Neuropharmacology**, Pequim, v. 121, p. 231-346, abr. 2017.
74. ZHOU, T. et al. Effect of memantine combined with citalopram on cognition of BPSD and moderate Alzheimer's disease: A clinical trial. **Experimental and Therapeutic Medicine**, 17, Dezembro 2018. 1625-1630.
75. ZHOU, Y.; DANBOLT, N.. Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. **Journal of Neural Transmission**, 121, n. 2, 11 Fevereiro 2014. 799–817.



\_\_\_\_\_

Data e assinatura do aluno(a)



\_\_\_\_\_ 25/10/2019

Data e assinatura do orientador(a)