

Maria Beatriz de Almeida e Silva Rodrigues

Doença de Alzheimer: Fisiopatologia e Genética

Orientador: Professor Doutor João Costa

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2019

Maria Beatriz de Almeida e Silva Rodrigues

Doença de Alzheimer: Fisiopatologia e Genética

Dissertação defendida em provas públicas na Universidade Lusófona e Tecnologias no dia 1 de Abril de 2019, perante o júri, nomeado pelo Despacho de Nomeação N° 24/2019, de 29 de Janeiro, com a seguinte composição:

Presidente:

Professor Doutor Luís Monteiro Rodrigues

Arguente:

Professora Doutora Ana Herrero Valverde

Vogais:

Professora Ana Mirco (ULHT)

Professora Dulce Santos (ULHT)

Orientador:

Professor Doutor João Costa

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2019

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço a todos os meus professores da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias por me terem transmitido o seu saber e o gosto de aprofundar os meus conhecimentos, orientando desta forma a minha escolha profissional.

De modo muito especial agradeço ao Professor Doutor João Costa por ter aceite ser o meu orientador, estar sempre disponível para esclarecer as minhas dúvidas e preocupações, e, sobretudo por ser um professor exemplar com o qual muito aprendi e muito me identifico.

Agradeço à minha Madrinha, Sara Neto, e à Doutora Rita Rodrigues, por me terem aberto as portas na área da Neurologia do Hospital de Aveiro.

A todos os meus amigos e namorado agradeço terem sempre compreendido as minhas ausências, respeitando as minhas convicções e prioridades sem nunca duvidarem dos meus objetivos.

À minha família agradeço todos os valores pessoais, emocionais e profissionais que me transmitiram ao longo dos anos, encorajando-me sempre e acreditando que com esforço e dedicação conseguimos alcançar os objetivos.

Por último, mas não menos importante, agradeço aos meus pais e irmã gémea por me amarem sem limites.

Resumo

A doença de Alzheimer é a quinta principal causa de morte a nível Mundial. Esta é uma demência que se caracteriza pela deterioração progressiva da função cognitiva de caráter irreversível. Esta doença afeta geralmente indivíduos a partir dos 60 anos e a sua prevalência tem tendência a aumentar devido ao aumento da esperança média de vida.

Para além da idade, também a história familiar de doença de Alzheimer é um fator de risco para o seu aparecimento, uma vez que a forma familiar da doença está relacionada com mutações em genes específicos.

Quanto à terapêutica disponível, esta apenas consegue controlar os sintomas da doença não atuando ao nível da sua progressão.

Dada a elevada incidência da doença de Alzheimer, torna-se urgente o controlo e a monitorização dos fatores risco, bem como o desenvolvimento de novas opções terapêuticas. Estas deverão atuar essencialmente em alvos relacionados com a sua fisiopatologia, nomeadamente, tendo como base as teorias da cascata β -amilóide e da hiperfosforilação da proteína τ .

Nesta dissertação, foi ainda realizado um questionário em duas Farmácias Comunitárias, sobre a doença de Alzheimer, aos doentes, familiares ou acompanhantes. Este teve como objetivos perceber a idade e o género em que a doença de Alzheimer se manifesta com maior frequência, qual a terapêutica atualmente mais prescrita em Portugal e como a história clínica e familiar podem influenciar o aparecimento da doença e assim relacionar-se com a genética.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer, Genética, proteína β -amilóide, proteína τ , neurodegeneração

Abstract

Alzheimer's disease is the fifth leading cause of death worldwide. This is a dementia characterized by the progressive deterioration of irreversible cognitive function. This disease generally affects individuals from the age of 60 and it tends to grow due to the increase in the average life expectancy.

Beyond the age, the family history of Alzheimer is a risk factor for the onset of the disease, since the familiar form of the disease is related to specific genes mutations.

As for the available therapy, this can only control the symptoms of the disease, not acting in terms of its progression.

Given the high incidence of Alzheimer's disease, it is urgent to control and monitor the risk factors, as well as the development of new therapeutic options. These should act essentially on targets related to their pathophysiology, namely, based on the theories of the β -amyloid cascade and the hyperphosphorylation of the τ protein.

In this dissertation, a questionnaire was carried out in two Community Pharmacies on Alzheimer's disease, to the patients, relatives or companions. The scope of this study was to understand the age and gender in which Alzheimer's disease manifests itself more frequently, what is currently the most prescribed therapy in Portugal and how the family and clinical history can influence the onset of disease and thus relate to genetics.

Key-words: Alzheimer's disease, Genetics, β -amyloid protein, τ protein, neurodegeneration

Abreviaturas, siglas e símbolos

AADvac1- Péptido do axónio 108 conjugado com hemocianina

ADAM- Metaloproteases

ADNP- Proteína neuroprotetora com atividade dependente

AN1792- A β 1-42

APOE- Apolipoproteína E

APP- Proteína precursora amilóide

AVC- Acidente vascular cerebral

A β - β -amilóide

BACE-1- Enzima com atividade β -secretase

BHE- Barreira Hematoencefálica

BMS-241027- Epotilona D

CAD-106- Amilomotide

CDK5- Quinase dependente de ciclina

CLU- Clusterina

CR1- Recetor 1 do complemento

DA- Doença de Alzheimer

FDA- *Food and Drug Administration*

GSK-3 β - Quinase glicogénio sintetase isoforma β

IDE- Enzima de degradação da insulina

LCR- Líquido cefalorraquidiano

LMTX- Metiltioninio

LRP-1- Lipoproteína de baixa densidade relacionado com o recetor da proteína 1

NAP- Davunetide

NEP- Nepresilina

NMDA- N-Metil-D-aspartato

OMS- Organização Mundial de Saúde

PBT-1- Clioquinol

PICALM- Fosfatidilinositol de ligação à proteína de montagem clatrina

PP2A- Proteína fosfatase 2 A

PSEN1- Presenilina 1

PSEN2- Presenilina 2

RAGE- Recetor avançado de glicações e produtos

SNC- Sistema Nervoso Central

SNP- Sistema Nervoso Periférico

SORL1- Recetor 1 relacionado com a Sortilina

TPI-287- Abeotaxano

Índice

Agradecimentos	ii
Resumo	iii
Abstract	iv
Abreviaturas, siglas e símbolos	v
Índice	vii
Índice de Tabelas	ix
Índice de Gráficos	x
Índice de Figuras	xi
Introdução	1
1. A doença de Alzheimer	3
1.1. Epidemiologia da Doença	4
1.2. Sinais e sintomas	7
1.3. Fisiopatologia da Doença.....	9
Hipótese da cascata amilóide.....	14
Hiperfosforilação da proteína τ	17
1.4. Fatores de risco	19
1.5. Terapêutica Farmacológica	22
2. Genes envolvidos na doença de Alzheimer	30
2.1. Precursor da proteína β -amilóide.....	30
2.2. Proteína presenilina	31
2.3. Apolipoproteína E.....	32
2.4. Outros grupos de genes envolvidos	33
3. Novas perspectivas e estratégias no tratamento da Doença de Alzheimer	37
3.1. Terapêutica de acordo com a Hipótese Amilóide.....	37
3.2. Terapêutica na Hiperfosforilação do τ	40
3.3. Terapêutica antioxidante	43

3.4. Tratamento com anti-inflamatórios	45
3.5. Tratamento com Estrogênio	45
4. Trabalho experimental	47
4.1. Objetivo.....	47
4.2. Método	47
4.3. Tratamento dos dados	47
4.4. Discussão	54
Conclusão	56
Bibliografia.....	59
Apêndices.....	66
Apêndice I.....	i

Índice de Tabelas

Tabela 1: Características dos diferentes inibidores da colinesterase utilizados no tratamento da DA	26
Tabela 2: Características da memantina	28
Tabela 3: Distribuição do número de doentes por idade	47
Tabela 4: Distribuição do número de doentes por género	48
Tabela 5: Intervalo de idade de diagnóstico da doença de Alzheimer	49
Tabela 6: Fármacos utilizados no controle da doença.....	50
Tabela 7: Doentes com familiares com doença de Alzheimer	51
Tabela 8: Número de doentes com familiares com a doença de Alzheimer	52
Tabela 9: Grau de parentesco dos familiares com doença de Alzheimer.....	53

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Distribuição do número de doentes por idade	48
Gráfico 2: Distribuição do número de doentes por género.....	49
Gráfico 3: Intervalo de idades de diagnóstico da doença de Alzheimer	50
Gráfico 4: Fármacos utilizados no controle da doença	51
Gráfico 5: Doentes com familiares com doença de Alzheimer	52
Gráfico 6: Número de familiares com doença de Alzheimer	53
Gráfico 7: Grau de parentesco dos familiares dos doentes com doença de Alzheimer.....	54

Índice de Figuras

Figura 1- Aumento do número da população Mundial com mais de 60 anos ao longo do tempo (Reproduzida de World Health Organization, 2012).....	4
Figura 2- Incidência de demência ao longo do tempo nos países com rendimento elevado e em países com rendimento médio e baixo (Reproduzida de World Health Organization, 2012).	5
Figura 3- Incidência de demência em diferentes regiões do mundo dependente da idade e do desenvolvimento do país (Reproduzida de State & Trends, 2010).	6
Figura 4- Composição do encéfalo (Reproduzida Seeley, R., Stephens, T., Tate, 2003).	11
Figura 5- Localização dos hemisférios e divisão em lobos no cérebro (Reproduzida Seeley, R., Stephens, T., Tate, 2003).	12
Figura 6- Localização do Hipocampo (Reproduzida Seeley, R., Stephens, T., Tate, 2003)..	13
Figura 7- Formação de placas amilóides a partir de APP (Reproduzida de Sanabria-Castro et al., 2017).	15
Figura 8- Alterações celulares presentes na DA (Reproduzida de Congdon & Sigurdsson, 2018).	19
Figura 9- Representa o risco cumulativo do aparecimento da doença de Alzheimer em função dos anos nos diferentes géneros e etnias (Reproduzida de Keene & Montine, 2018).	20
Figura 10- Representa os fármacos aprovados pela FDA para tratamento da Doença de Alzheimer (Reproduzida de Martinez & Castro, 2006).	23
Figura 11- Representa o efeito do tratamento numa fase inicial da doença comparativamente ao tratamento numa fase tardia em relação à função cognitiva (Reproduzida de Small & Bullock, 2011).	23
Figura 12- Formação da acetilcolina e mecanismo de ação dos inibidores da colinesterase (Reproduzida de Lleó et al., 2006).	25

Introdução

A doença de Alzheimer descoberta em 1901 por Lois Alzheimer, representa a causa mais comum de demência em todo o Mundo, afetando cerca de 47 milhões de pessoas, com tendência a aumentar ao longo dos anos devido ao aumento da esperança média de vida da população Mundial (State & Trends, 2010).

O principal fator de risco no desenvolvimento da doença é a idade, pois a probabilidade de aparecimento desta doença aumenta com o aumento da idade, sendo que, o risco aumenta a partir dos 60 anos (Duthey & Ph, 2013).

Além da idade, a existência de história clínica na família, aumenta a probabilidade do aparecimento da doença, visto que, esta pode estar relacionada com mutações genéticas que a desencadeiam. Existem ainda outros fatores de risco tais como, alterações cerebrovasculares, pressão arterial, alteração da metabolização da glicose e dislipidemias. Estes antecedem o aparecimento da doença, logo é de primordial importância o seu controlo e monitorização de modo a atrasar o aparecimento da doença de Alzheimer (Keene & Montine, 2018).

A doença de Alzheimer, é uma doença neurodegenerativa que afeta primeiramente a memória, pois afeta o hipocampo e o córtex entorrinal espalhando-se para outras áreas com a progressão da doença (Evans et al., 2010).

Patologicamente esta demência é caracterizada pela deposição de placas de proteína β -amilóide e de emaranhados neurofibrilares constituídos pela acumulação intracelular de proteína τ hiperfosforilada (Keene & Montine, 2018).

Quanto ao aparecimento da doença, existem diversas teorias, sendo a hipótese da cascata amilóide a hipótese, atualmente, mais bem aceite, no entanto, esta apenas explica a deposição de placas amilóides (Keene & Montine, 2018). No fundo, percebe-se que é a deposição de placas amilóides como a hiperfosforilação da proteína τ que leva às características da doença (Massoud & Gauthier, 2010).

A terapêutica utilizada para a doença de Alzheimer, são os inibidores da colinesterase (donepezilo, galantamina e rivastigmina) e a memantina (Infarmed, 2011), no entanto, estes apenas conseguem controlar os sintomas da doença uma vez que não conseguem reverter as alterações neurológicas já causadas (Lleó, Greenberg, & Growdon, 2006).

Estes inibidores da colinesterase, foram desenvolvidos com o objetivo de diminuir os sintomas cognitivos, pois, percebeu-se que o sistema colinérgico estava envolvido na formação de memórias estando este processo alterado na doença de Alzheimer. Esta terapêutica é recomendada na fase leve a moderada da doença, no entanto, deve-se monitorizar a resposta à terapêutica de modo a avaliar a existência de efeito terapêutico (INFARMED, 2011).

Outro fármaco utilizado na doença de Alzheimer é a memantina, utilizada numa fase moderada a grave da doença e com interesse tanto em monoterapia como em associação com os inibidores da colinesterase uma vez que estes não interagem entre si (INFARMED, 2011).

Apesar da terapêutica utilizada, torna-se de grande interesse a busca de novas classes de fármacos e novos alvos terapêuticos, pois sabe-se que os utilizados apenas apresentam uma eficácia moderada. Assim o conhecimento fisiopatológico e a genética da doença são fatores essenciais para se poder descobrir novas estratégias que interfiram no controlo e tratamento da doença (Wake et al., 2018).

1. A doença de Alzheimer

A palavra demência tem origem na palavra “dementia”, bastante antiga e citada pela primeira vez em 600 d.C. por Saint Isidore no seu livro “Etymologies”. Esta palavra deriva do latim sendo que o prefixo “de” significa perda, “ment” significa mente e o sufixo “ia” representa um estado, assim a palavra demência refere-se a um estado de perda da mente. No entanto, antes de ser usado este termo já a população estava ciente da perda de memória na população mais velha, existindo por exemplo relatos na população egípcia (Yang, Kim, Lee, & Young, 2016).

Pitágoras, em 500 a.C., classificou a vida humana em seis fases sendo a 1ª fase: a do nascimento que iria do nascimento até aos 6 anos, a 2ª fase: a adolescência dos 7 aos 21 anos, a 3ª fase: a adulta dos 22 aos 49 anos, a 4ª fase: a meia-idade dos 50 aos 62 anos, a 5ª fase: dos 63 aos 79 anos que representa o envelhecimento e a 6ª fase: a partir dos 80 anos que representava a velhice. Sendo que nestas últimas duas fases ocorreria um declínio da função cognitiva, fazendo com que esta degenerasse ao ponto de uma criança (Yang et al., 2016).

Foi apenas no século XIX que, Otto Ludwig Binswanger e Alois Alzheimer estudaram diferentes formas de demências vasculares reportando através dos seus estudos a demência da senil que mais tarde viria a ser conhecida como doença de Alzheimer (DA; Yang et al., 2016). Alois Alzheimer descobriu esta doença após ter observado uma mulher no Hospital Psiquiátrico de Frankfurt, onde era assistente, com sintomatologia de paranoia sendo esta progressiva e cada vez mais acentuada. Os sintomas variavam entre alteração do padrão do sono, distúrbios na memória, agressividade, tristeza acompanhada de choro e uma confusão progressiva, tendo sido internada no Hospital, acabando por morrer. Após a sua morte, Alois Alzheimer pôde investigar o cérebro da mulher acabando por descobrir placas amilóides, relacionando-as com os sintomas que a mulher tinha, acabando assim por descobrir a causa da demência que teria o nome de DA (Hippius & Neundörfer, 2003). A DA é uma doença neurodegenerativa sendo a causa de demência mais prevalente no Mundo, a qual é caracterizada pela perda de memória e alteração da personalidade (Zádori, Veres, Szalárdy, Klivényi, & Vécsei, 2018). No entanto, apesar da neurodegeneração e da deposição de placas amilóides serem características da doença, não são únicas, uma vez que acontecem igualmente na grande maioria das outras demências. O que distingue a DA das restantes doenças neurodegenerativas é principalmente a acumulação de emaranhados neurofibrilares (Lau, Brodney, 2008). Enquanto as placas amilóides são compostas por uma proteína extracelular β -amilóide, os

emaranhados neurofibrilares são constituídos pela proteína τ que se apresentam na sua forma hiperfosforilada de origem intracelular formando filamentos helicoidais. É a combinação destas duas estruturas presentes no cérebro que faz com que os portadores da doença apresentem os sintomas característicos (Sanabria-Castro, Alvarado-Echeverría, & Monge-Bonilla, 2017).

1.1. Epidemiologia da Doença

Uma demência é caracterizada por uma deterioração da função cognitiva, bem como do comportamento, sendo muitas delas de caráter irreversível (Reitz, Brayne, & Mayeux, 2011). Com o aumento do envelhecimento da população Mundial, torna-se inevitável o aumento de casos de demência, o que resulta num efeito negativo, mas consequente desse envelhecimento. Estima-se que em 2050, o número de pessoas, a nível Mundial com mais de 60 anos seja aproximadamente 2 bilhões (figura 1), o que faz com que consequentemente o número de pessoas com demência também aumente (World Health Organization, 2012).

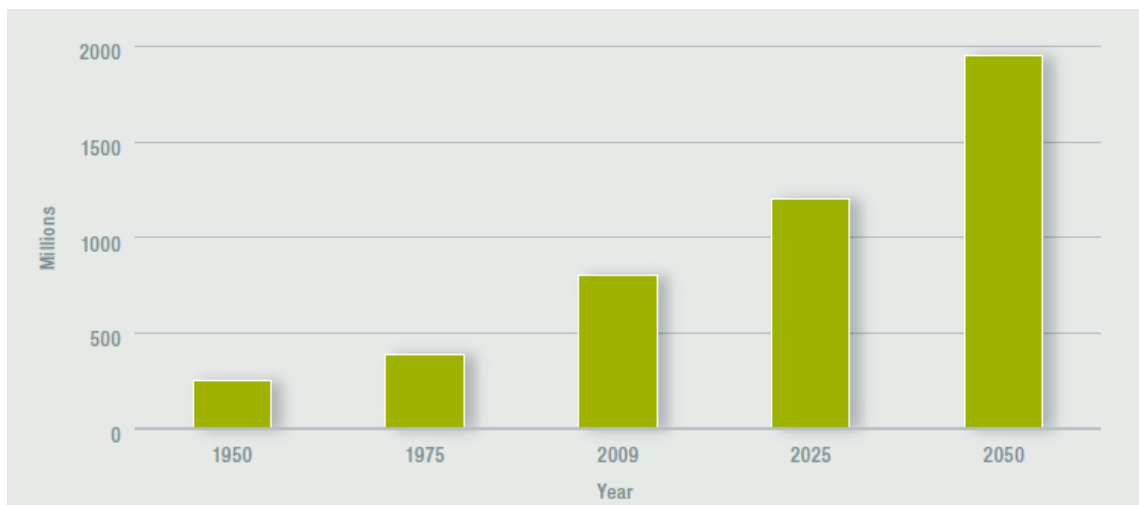


Figura 1- Aumento do número da população Mundial com mais de 60 anos ao longo do tempo (Reproduzida de World Health Organization, 2012).

Em 2015, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), estimava-se que 47,47 milhões de pessoas viviam com uma demência, sendo o valor estimado para 2030 superior cerca de 75,63 milhões, o mesmo acontecendo para o valor estimado para 2050 estando este à volta de 135,46 milhões (State & Trends, 2010).

Assim, em 2050 enquanto 37% das pessoas que vivem com uma demência serão de países com rendimentos altos, os restantes 63% das pessoas viverão em países com rendimentos

médios e baixos (figura 2). A incidência de demência aparente é mais elevada nos países com rendimentos superiores, comparativamente aos países com rendimentos médios e baixos. Este facto deve-se, pelo menos em parte, aos rigorosos critérios usados para o diagnóstico de demências nos países de rendimentos superiores comparativamente aos países de rendimentos médios e baixos, que não apresentam tantos meios para o diagnóstico destas patologias (figura 3; State & Trends, 2010).

O aumento da esperança média de vida faz com que estes valores aumentem exponencialmente ao longo do tempo, estimando-se que de 2015 para 2050 o número de pessoas com demência seja mais elevado (State & Trends, 2010).

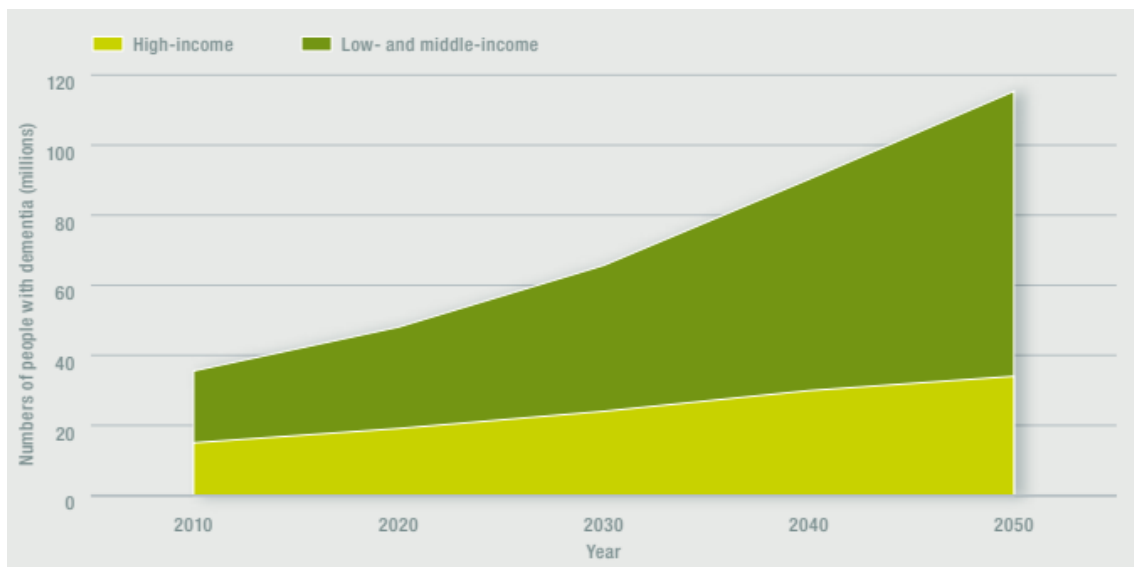


Figura 2- Incidência de demência ao longo do tempo nos países com rendimento elevado e em países com rendimento médio e baixo (Reproduzida de World Health Organization, 2012).

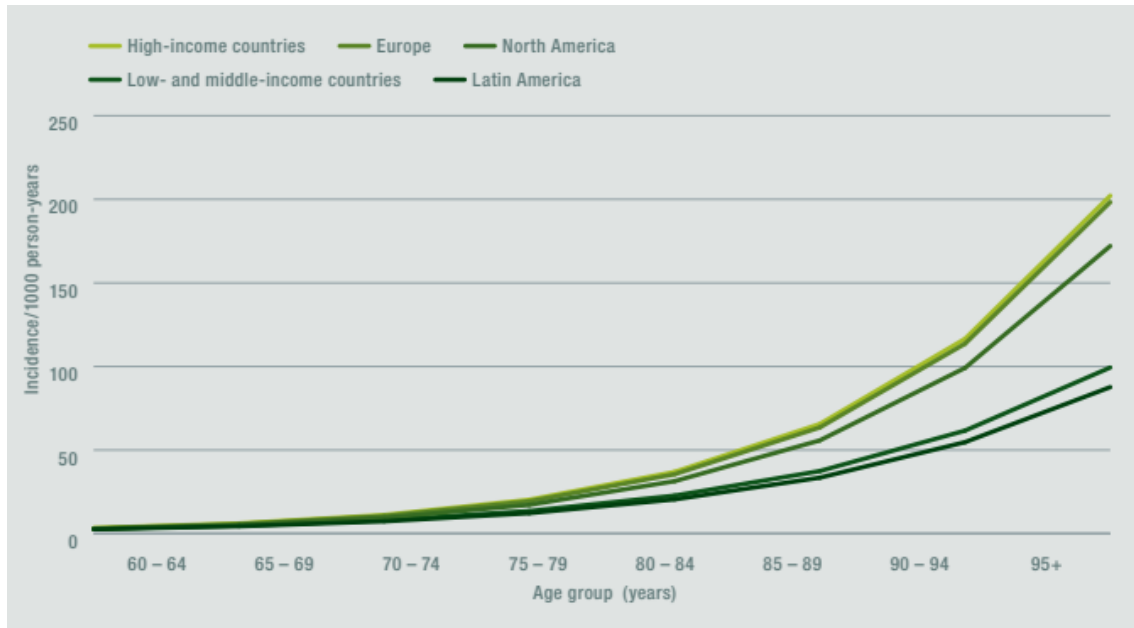


Figura 3- Incidência de demência em diferentes regiões do mundo dependente da idade e do desenvolvimento do país (Reproduzida de State & Trends, 2010).

Analisando a figura 3, percebe-se que o desenvolvimento do país não é o único fator responsável pelo aparecimento de demência, estando também a idade e a esperança média de vida relacionada com o seu aparecimento. Até aos 60-64 anos parece existir uma incidência que ronda os 0% sendo que ao longo do tempo essa incidência aumenta, principalmente após os 80-84 anos (State & Trends, 2010). Esta demência afeta cerca de 5-8% dos indivíduos com cerca de 60 anos, sendo que essa prevalência aumenta exponencialmente com o avançar da idade, aumentando para 20% nos indivíduos com cerca de 75 anos e para 25-50% nos indivíduos com mais de 85 anos (Duthey & Ph, 2013).

Uma vez que, a DA é responsável por cerca de 60-70% das demências, torna-se de extrema importância estudá-la de modo a garantir uma melhor saúde mental na população (Duthey & Ph, 2013).

Assim, percebe-se que a incidência da doença duplica a cada dez anos após os 60 anos de idade, havendo ainda pouca diferença em relação ao género, tanto na incidência como na prevalência. Os estudos sobre a DA apresentam um número superior no género feminino em relação ao masculino, estando relacionado com a diferença existente na esperança média de vida que é superior no género feminino (Keene & Montine, 2018).

Segundo o relatório de 2015, apresentado pela *Alzheimer's Disease Internacional*, estima que a presença de DA em pessoas com mais de 60 anos ronde 4,6% na Europa Central,

8,7% no Norte de África e Médio Oriente. Assim, cerca de 46,8% da população Mundial vive com esta doença (Correia, Filipe, Santos, & Graça, 2015), sendo a quinta causa de morte no Mundo (Apostolova et al, 2012).

Apesar da DA poder ser prevalente em indivíduos com menos de 60 anos, ainda não existem estudos populacionais, no entanto, estima-se que o número de casos de Alzheimer entre os 30-60 anos seja de 34% (Keene & Montine, 2018).

A DA segue a mesma tendência que as demências no geral, estimando-se que o número de casos aumente para o dobro em 2030 e para o triplo em 2050, devido à tendência da população Mundial que se tem tornado cada vez mais envelhecida (Duthey & Ph, 2013).

Em relação à DA na Europa, a Associação Europeia de Alzheimer prevê um aumento exponencial no número de casos para os próximos anos sendo que estima cerca de seis milhões de casos de Alzheimer na União Europeia, estando 40% desses casos em estado terminal, mas ainda a viver em casa, enquanto os outros 60% se encontram suportados por cuidados de saúde (Duthey & Ph, 2013).

Em Portugal, os dados mais recentes referem que cerca de 182.000 pessoas vivem com DA, sendo este valor representativo de 1,71% da população Portuguesa, superando a média Europeia de 1,55% (Correia et al., 2015).

Assim, percebe-se que os custos associados com a DA tendem a aumentar a nível Mundial, fundamentalmente pelo aumento do número de casos. Devido ao desequilíbrio na prevalência Mundial, bem como na distribuição de custos, torna-se difícil uma distribuição igualitária de recursos (World Health Organization, 2012).

1.2. Sinais e sintomas

A DA é caracterizada por distúrbios neuropsiquiátricos devido à deteriorização cognitiva, pois as placas amilóides não deixam que ocorra o normal funcionamento dos neurónios (Selkoe, 2018). Os primeiros sinais e sintomas da DA já são bastante conhecidos, no entanto, são difíceis de tratar. Há a percepção da perda gradual na função cognitiva, estando entre os sintomas a alteração do padrão do sono, angustia, psicose acompanhada de agitação, apatia, depressão e esquecimento. Quando se fala nos distúrbios neuropsiquiátricos da DA estes afetam cerca de 97% dos indivíduos que apresentam a doença, sendo que, para além de raramente

desaparecem vão evoluindo ao longo do tempo. Os efeitos destes distúrbios vão para além dos seus sintomas, fazendo com que afete a vida quotidiana dos portadores, provocando incapacidade para realizar as tarefas mais básicas do dia-a-dia, refletindo-se numa má qualidade de vida (Lancôt et al., 2017). Contrariamente ao que se possa pensar, a DA nem sempre é sintomática, começando com um longo período assintomático, apenas com progressão das alterações fisiológicas. O facto dos sintomas só serem observados numa fase mais tardia da doença, dificulta a iniciação da terapêutica (Sperling et al., 2011).

Numa fase inicial da doença, o seu diagnóstico torna-se difícil, podendo ser confundido com o processo normal de envelhecimento, estando presentes sintomas de ansiedade, incerteza e confusão (Cruz, Pais, Teixeira, & Nunes, 2004). Assim, há um longo período assintomático desde o início das alterações bioquímicas no cérebro e o desenvolvimento dos sintomas da doença, podendo ser esse período de cerca de 16 anos (Keene & Montine, 2018). Ao longo do tempo, os sintomas vão-se agravando, sendo, muitas vezes, procurados cuidados continuados (California Department of Public Health, 2008). Pelo facto da DA ser uma doença degenerativa, em que fica comprometida a função cognitiva e, apesar da doença ser conhecida pela falta de memória, existem outros sintomas que lhe são associados tais como depressão, agressividade, ansiedade, delírios, alucinações, falta de apetite, distúrbio do sono, euforia, desinibição, distúrbio motor e irritabilidade (Lancôt et al., 2017).

Através de alguns estudos, percebe-se que os sintomas neurológicos não surgem todos ao mesmo tempo, aparecendo em três fases distintas. Na primeira fase, torna-se mais pronunciada uma irritabilidade, depressão, bem como distúrbios do sono. Numa segunda fase, os sintomas presentes são a ansiedade, alterações no apetite, agitação e apatia, e por fim, na terceira e última fase há uma euforia extrema, distúrbios motores notórios, alucinações, delírios e desinibição. Assim, a evolução dos sintomas está dependente da evolução da doença, sendo todos eles característicos da neurodegeneração (Lancôt et al., 2017).

Os critérios de diagnóstico na DA são os critérios aceites pelo Instituto Nacional do Envelhecimento Doença de Alzheimer e Trantornos Relacionados (*National Institute of Aging and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association*), tentando detetar a doença numa fase precoce e pré-sintomática. Para diagnosticar a DA são utilizados critérios de diagnóstico clínicos, que são os principais, mas também têm vindo a ser utilizados diferentes biomarcadores, no entanto estes são mais usados em investigação. Para o diagnóstico da doença o paciente terá que apresentar um dos critérios de diagnóstico principais e um ou mais critérios

de diagnóstico com biomarcadores (Apostolova et al, 2012).

Os critérios de diagnóstico principais dizem respeito à presença de um comprometimento precoce e significativo da memória (Mathuranath, Nestor, Berrios, Rakowicz, & Hodges, 2000) como: mudança progressiva e gradual na função de memória relatada com uma duração superior a 6 meses; evidência objetiva de episódios de falta de memória no teste e comprometimento da memória episódica isoladamente ou associada a alterações cognitivas (Apostolova et al, 2012).

Em relação aos critérios de diagnóstico, mais utilizados em investigação, estes relacionam-se com a presença de atrofia no lobo temporal, presença de biomarcadores anormais no líquido cefalorraquidiano (LCR), sendo eles a diminuição da proteína β -amilóide ($A\beta$), aumento da proteína τ e aumento da fosforilação desta mesma proteína e mutação comprovada na família (Apostolova et al, 2012).

Apesar de todos os avanços em neurologia clínica para o diagnóstico da doença, uma vez que se trata da quinta causa de morte em todo o Mundo, o diagnóstico real apenas pode ser feito recorrendo a uma biópsia cerebral ou uma autópsia (Apostolova et al, 2012).

1.3. Fisiopatologia da Doença

O Sistema Nervoso é uma rede constituída por células especializadas que controlam todas as funções do organismo. É constituído pelas células nervosas (neurónios), que têm como função coordenar todas as informações no organismo e são protegidas pelas células glia (Summavielle et al, 2012). Este sistema apesar de ser visto como um todo, é dividido em Sistema Nervoso Central (SNC), constituído pelo encéfalo e a medula espinal e pelo Sistema Nervoso Periférico (SNP), constituído pelos nervos cranianos, espinais e gânglios associados (Seeley, R., Stephens, T., Tate, P. 2003). O SNP é ainda dividido em Sistema Nervoso Somático, que recebe os estímulos externos e coordena os movimentos voluntários, e o Sistema Nervoso Autónomo, responsável pelos estímulos involuntários no organismo (Summavielle et al, 2012).

Em relação às células que compõem o SNC estas são os neurónios e as células da glia. Os neurónios têm como principal função o transporte de informação, tanto aos outros neurónios como aos órgãos, organizando-se em forma de rede e controlando o normal funcionamento de todo o organismo (Summavielle et al, 2012).

Os neurónios quanto à sua constituição, são formados por um corpo celular, soma, que contem núcleo, organelos e um grande número de microtúbulos no citoplasma, por dendritos, que é o local de formação de sinapses e de extrema importância para a formação da rede neuronal, uma vez que se ligam aos neurotransmissores que se encontram na fenda sináptica, conduzindo assim os sinais e, por fim, pelo axónio que conduz o impulso nervoso até ao terminal sináptico de modo a este ser recebido pelos dendritos da próxima célula nervosa (Summavielle et al, 2012). O tamanho e a forma dos neurónios variam conforme as suas funções, uma vez que, embrionariamente elas derivam do epitélio pseudo-estratificado que reveste o lúmen do tubo neural e adquirem capacidade migratória acabando por sofrer diferenciação, segundo as funções que irão exercer (Seeley, R., Stephens, T., Tate, 2003). Os neurónios apresentam ainda mecanismos de degradação dos compostos, sendo que mais tarde a molécula ubiquitina interage com as proteínas degradadas de modo a eliminá-las. Quando tal não acontece, poderá ocorrer uma neurodegeneração, característica das doenças neurodegenerativas (Rossor et al, 2016).

Quanto às células da glia, estas são responsáveis pelo suporte e proteção neuronal, ajudando na remoção dos neurónios mortos e contribuindo para o bom funcionamento do Sistema Nervoso. A glia é composta por astrócitos e microglia (Summavielle et al, 2012). Os astrócitos, com forma de estrela, rodeiam os vasos sanguíneos do cérebro e aderem às células endoteliais de modo a formar a barreira hematoencefálica (BHE), mantendo a homeostasia do SNC. Quando ocorre algum tipo de trauma no SNC, os astrócitos tornam-se reativos para reestabelecer a BHE de modo a que a inflamação não alastre para uma neurodegeneração (Seeley, R., Stephens, T., Tate, 2003). Em relação à BHE, esta é composta por uma bicamada fosfolipídica com uma cabeça hidrofílica e uma cauda hidrofóbica não polar e insolúvel. As proteínas presentes nesta membrana neuronal têm como função a interação com os neurónios e com o meio onde se inserem. Estas proteínas, são canais iónicos, recetores e proteínas de adesão aos microtúbulos dos neurónios, como a proteína τ (Rossor et al, 2016).

A microglia, é composta por macrófagos que respondem a infeções, vírus e outros microorganismos presentes no SNC fagocitando-os de modo a recuperar o normal funcionamento do sistema neuronal (Seeley, R., Stephens, T., Tate, 2003).

A transmissão dos impulsos nervosos ao longo da rede neuronal é feita através de sinapses, que se podem dividir em: sinapses elétricas, mais simples e mais rápidas e por sinapses químicas, que utilizam neurotransmissores (Summavielle et al, 2012).

O SNC é composto pela medula espinal e pelo encéfalo sendo este último composto pelo tronco cerebral, o cerebelo, o diencefalo e o cérebro (figura 4; Seeley, R., Stephens, T., Tate, 2003).

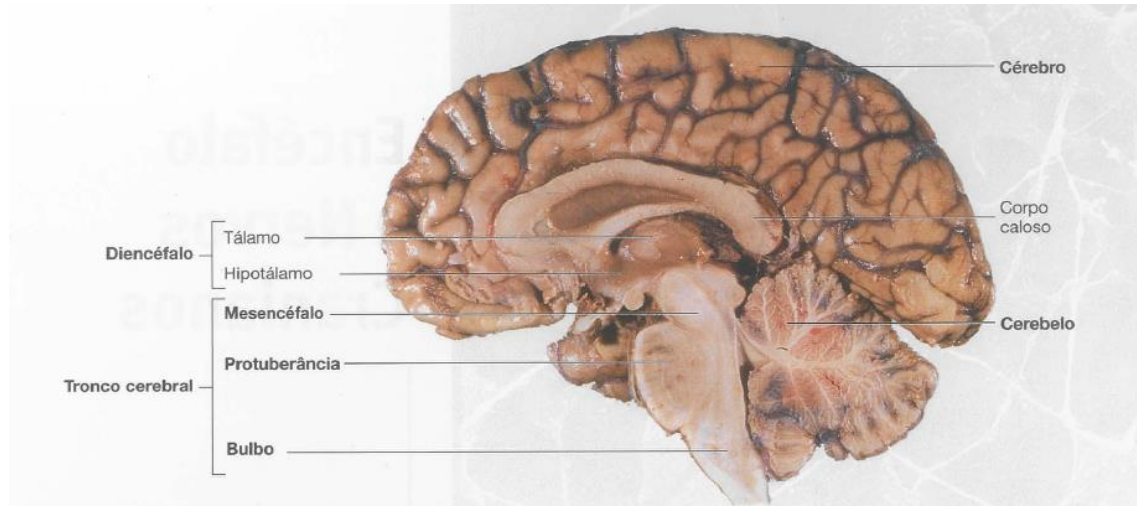


Figura 4- Composição do encéfalo (Reproduzida Seeley, R., Stephens, T., Tate, 2003).

O tronco cerebral é composto pelo bulbo raquidiano, a ponte e o mesencéfalo, (figura 4). Faz a ligação entre a medula espinal e o encéfalo. Situações de lesões do tronco cerebral muitas vezes levam à morte, uma vez que, os reflexos essenciais à vida ficam comprometidos (Seeley, R., Stephens, T., Tate, 2003). O cerebelo, comunica com o SNC através de feixes nervosos, tendo como funções o controlo do movimento muscular, bem como, regular o movimento intencional relacionado com a aprendizagem das capacidades motoras (Vander, A., Sherman, J, Luciano, 1994). Em relação ao diencefalo, este é composto pelo tálamo, o subtálamo, o hipotálamo e o epitálamo. As funções do hipotálamo são variadas, entre as quais o controlo da função endócrina, de emoções como *stress*, medo e raiva e a regulação do ciclo sono-vigília. No controlo das emoções também intervém o tálamo. Por fim, o cérebro é a maior porção do encéfalo, está dividido em dois hemisférios, o esquerdo e o direito, estando estes divididos em lobos, que se designam de acordo com os ossos do crânio que lhes estão sobrepostos (figura 5; Seeley, R., Stephens, T., Tate, 2003).

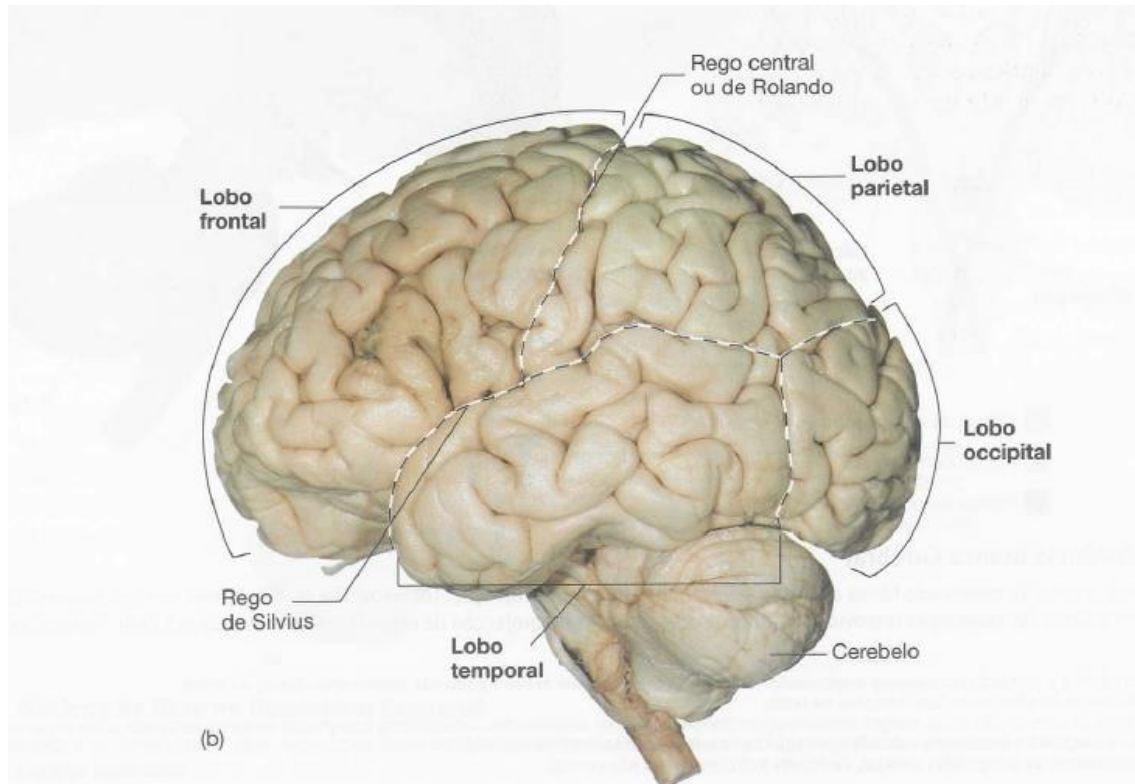


Figura 5- Localização dos hemisférios e divisão em lobos no cérebro (Reproduzida Seeley, R., Stephens, T., Tate, 2003).

As funções de cada lobo são distintas entre si. O lobo frontal, está relacionado com a função motora voluntária, motivação, agressão, sentido de olfato e humor. O lobo parietal é responsável pela informação sensorial, exceto no que diz respeito ao olfato, à audição e à visão. O lobo occipital está relacionado com os estímulos visuais mais concretamente na sua receção e integração. O lobo temporal, é responsável pela perceção e avaliação dos estímulos olfativos e auditivos desempenhando ainda um papel importante na formação de memórias (Seeley, R., Stephens, T., Tate, 2003). O cérebro é ainda composto pela substância cinzenta e a substância branca onde na primeira ocorrem as sinapses. Na substância cinzenta, a superfície exterior do cérebro é denominada de córtex, enquanto a parte mais interna é denominada de substância branca. Tanto o encéfalo como a medula espinal são protegidas pelas meninges, que são constituídas por três camadas, a duramárter, camada mais superficial, a aracnóideia, camada média muito fina e delgada e a piamáter, camada mais interna. O LCR que circula entre as duas camadas mais externas de modo a proteger o encéfalo de agressões físicas e químicas é produzido pelos ventrículos (Vander, A., Sherman, J, Luciano, 1994).

Na DA um dos principais locais afetados é o hipocampo (figura 6). Este encontra-se situado nos lobos temporais e faz parte do sistema límbico. Este sistema está associado a instintos de sobrevivência como a memória, a reprodução, a nutrição e também se encontra envolvido nas emoções. Como este sistema está relacionado com a formação de memórias, as alterações neste sistema levam a perda de memória a curto e mais tarde a longo prazo (Seeley, R., Stephens, T., Tate, 2003).

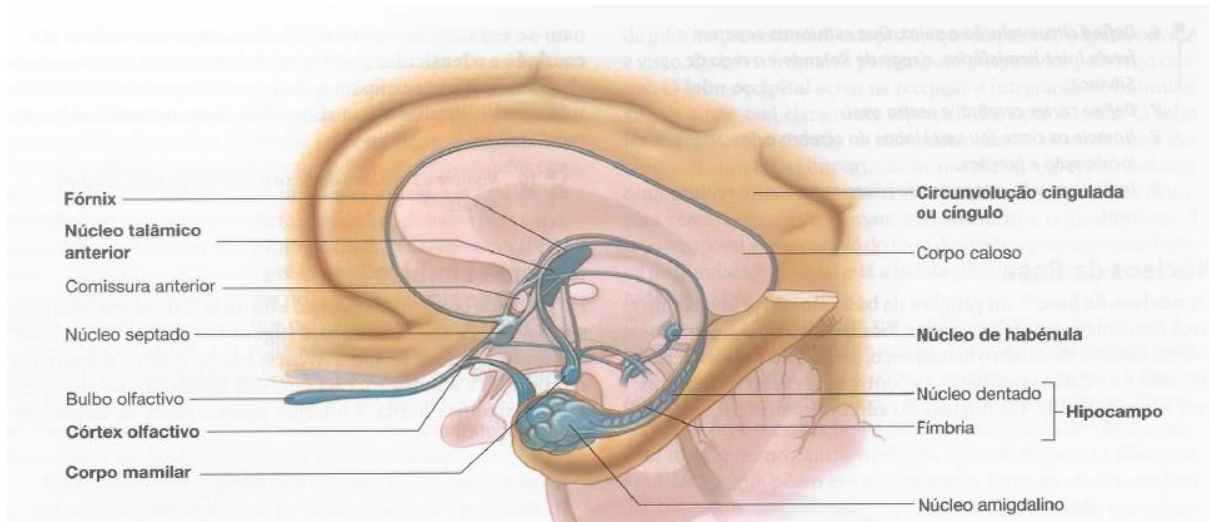


Figura 6- Localização do Hipocampo (Reproduzida Seeley, R., Stephens, T., Tate, 2003).

Como referido anteriormente, a DA é a forma de demência mais prevalente em todo o mundo e caracteriza-se essencialmente pela acumulação de placas β -amilóides e de emaranhados neurofibrilares de proteína τ , que resulta em neurodegeneração, uma vez que há comprometimento do transporte axonal, da neurotransmissão e da viabilidade da célula neuronal (Weiner et al., 2012).

Assim, enquanto que as placas amilóides são resultantes da presença da proteína $A\beta$, os emaranhados fibrilares estão relacionados com uma outra proteína, sendo esta a proteína τ no seu estado hiperfosforilado (Iqbal & Grundke-Iqbal, 2007).

As placas amilóides são encontradas no córtex entorrinal, no hipocampo e nas áreas neocorticais, enquanto que os emaranhados neurofibrilares surgem inicialmente no córtex entorrinal, hipocampo, lobo temporal e por fim afetam as áreas neocorticais, o córtex pré-frontal e parietal, sequencialmente (Massoud & Gauthier, 2010).

Várias hipóteses têm sido sugeridas de modo a explicar o aparecimento da doença, bem como os seus sintomas, no entanto, mantêm-se as hipóteses de que o aparecimento da doença está dependente da cascata amilóide bem como da hiperfosforilação da proteína τ , uma vez que são estes os dois marcadores usados no diagnóstico da doença (Massoud & Gauthier, 2010).

Hipótese da cascata amilóide

A hipótese da cascata amilóide assenta na anormalidade da produção e secreção da proteína precursora amilóide, denominada de APP, sendo que esta leva a um aumento da produção da proteína $A\beta$ e a uma diminuição da sua depuração, resultando em placas β -amilóides no cérebro, característica predominante na DA (Sanabria-Castro et al., 2017). A APP é uma glicoproteína do tipo I integral sendo traduzida a partir de um gene presente no cromossoma 21, contendo cauda citoplasmática, uma porção transmembranar e um domínio extracelular (Castellani, Zhu, Lee, Smith, & Perry, 2009). Apesar dos diferentes estudos, a sua função e especificidade ainda não são bem claras, no entanto, é sabido que a sua expressão aumenta durante os fenómenos de *stress* oxidativo nas células (Sanabria-Castro et al., 2017), o que contribui para um normal funcionamento da função neuronal e desenvolvimento cerebral (Swerdlow, 2007). A APP é clivada inicialmente por dois complexos enzimáticos, α -secretase e β -secretase, sendo que, posteriormente atua outra enzima de clivagem, denominada γ -secretase, que tanto atua após clivagem α como β . Normalmente, a clivagem α é predominante, produzindo um péptido com atividade neuroprotetora. Na DA, a clivagem predominante é a clivagem β que por ação da γ -secretase produz uma proteína insolúvel, proteína $A\beta$ causando neurotoxicidade (Massoud & Gauthier, 2010).

O processo da clivagem da APP leva a uma série de ruturas. Na clivagem pela α -secretase, que é uma enzima do tipo desintegrina que pertence à família das metaloproteases (ADAM), a qual é modulada pela ativação do recetor, fatores de crescimento, citocinas e hormonas (Sanabria-Castro et al., 2017). Assim, é formado e libertado um péptido de porção amino terminal denominado de APPs α e um fragmento carboxílico terminal mais longo (figura 7; Swerdlow, 2007).

A APPs α é uma proteína solúvel, que tem sido associada a fatores tróficos e funções neuroprotetoras, sendo encontrada em menor quantidade nos indivíduos com DA (Sanabria-Castro et al., 2017). Devido à combinação das secretases do APP, o fragmento carboxílico

terminal resultante da ação da α -secretase, é clivado pela γ -secretase (Swerdlow, 2007) dando origem a um péptido de tamanho pequeno denominado de P3, sendo este solúvel e não tóxico (figura 7; Massoud & Gauthier, 2010).

Contudo, nos pacientes com DA, a decomposição da APP é principalmente levada a cabo pelo complexo enzimático β -secretase, enzima com atividade β -secretase (BACE1), uma enzima transmembranar com atividade de protease que é modulado em situações de neurodegeneração, envelhecimento, trauma, hipoxia, inflamação entre outros, originando uma proteína de terminal amino solúvel e de curta porção (APPs β) e um fragmento carboxílico terminal mais longo (figura 7; Sanabria-Castro et al., 2017). O fragmento carboxílico terminal é clivado pela γ -secretase a qual é mediada pela presenilina 1 ou presenilina 2 dando origem a um péptido com 38-43 aminoácidos, denominado de A β (figura 7; Swerdlow, 2007). A clivagem deste composto carboxílico é irregular (Perl, 2010) sendo que, 90% da proteína A β produzida apresenta 40 aminoácidos é solúvel e encontra-se principalmente na vasculatura cerebral. No entanto, a proteína A β com 42 aminoácidos é a forma mais propensa à formação de fibrilas, uma vez que é insolúvel, originando assim placas amilóides. É importante referir também que ambas as formas estão envolvidas no processo da formação de placas amilóides (Silvestrelli, Lanari, Parnetti, Tomassoni, & Amenta, 2006). Deste modo, a proteína A β resultante tem tendência em se agrupar em oligómeros formando desta forma fibrilas e protofibrilas que irão formar as placas amilóides (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2013).

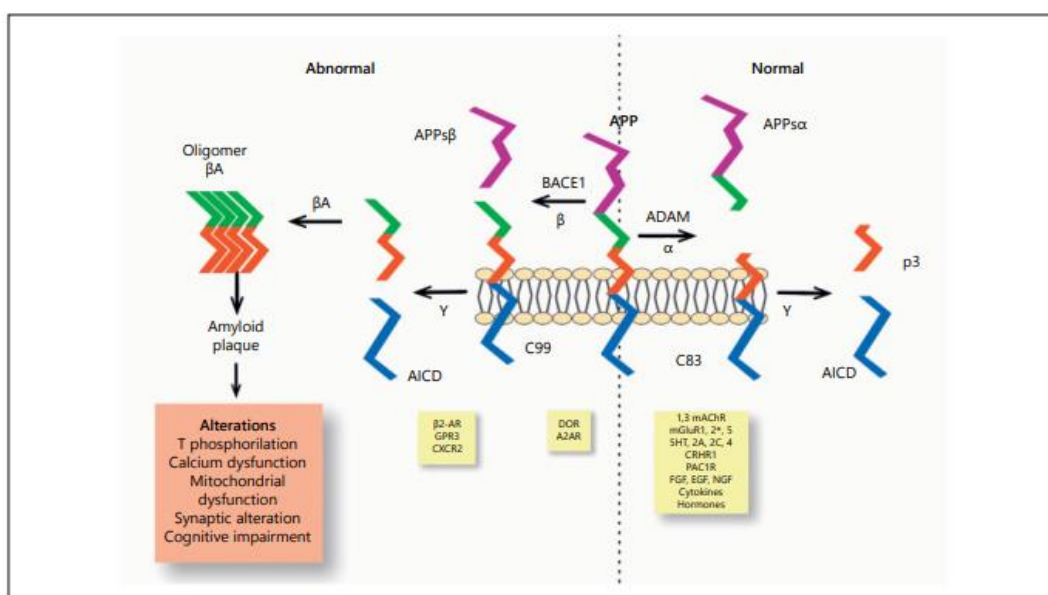


Figura 7- Formação de placas amilóides a partir de APP (Reproduzida de Sanabria-Castro et al., 2017).

Através da observação microscópica de alguns cortes histológicos provenientes do cérebro de pacientes com DA, percebe-se que existem focos de deposição de $A\beta$ extracelular, bem como lesões axonais e dendríticas associadas (Selkoe, 2018).

As placas amilóides contêm depósitos extracelulares de proteína $A\beta$ com fibras amilóides, sendo denominados de neurites (Selkoe, 2018). Estas são compostas por uma massa central de filamentos extracelulares que se estendem até à periferia misturados com neurónios e astrócitos reativos com abundantes filamentos gliais (Serrano-Pozo, Frosch, Masliah, & Hyman, 2011). Devido à destruição dos neurónios e da acumulação de placas amilóides, há um aumento anormal de astrócitos, astrogliose, de modo a recuperar a homeostase cerebral (Congdon & Sigurdsson, 2018). Esses processos neuronais conhecidos por neurites distróficas, ocorrem dentro deste depósito amilóide. E à volta deste, verifica-se lisossomas aumentados, numerosas mitocôndrias e filamentos emparelhados helicoidalmente, o que compõe as placas amilóides (Selkoe, 2018).

Assim, as neurites formam as placas amilóides contendo tanto proteína $A\beta$ com 42 aminoácidos, como proteína $A\beta$ com 40 aminoácidos, sendo que, podem estar em diversas zonas do cérebro alterando a concentração de alguns neurotransmissores (Selkoe, 2018).

O transporte da proteína $A\beta$ através da BHE para o sangue ocorre devido à interação com os recetores, lipoproteína de baixa densidade relacionado com o recetor da proteína 1 (LRP-1), que são lipoproteínas de baixa densidade, relacionadas com o recetor, dependendo da ação de glicoproteínas. Devido ao envelhecimento há uma diminuição da expressão dos recetores LRP-1, aumentando assim a concentração da proteína $A\beta$ no cérebro. Esta por sua vez, passa pela BHE através de recetores avançados de glicações e produtos (RAGE), que são recetores transmembranares da imunoglobulina, que devido à diminuição da expressão da LRP-1 aumentam a concentração dos seus recetores, levando ao aumento de proteína $A\beta$ no SNC (Sanabria-Castro et al., 2017).

Assim, é devido à interação da proteína $A\beta$ com os recetores RAGE que ocorre inflamação e *stress* oxidativo, o que contribui para a perda da integridade sináptica e neuronal (Weiner et al., 2012), levando a uma perda de conectividade entre os neurónios, originando declínio cognitivo (Gomez-Isla, Spires, De Calignon, & Hyman, 2008). Estes eventos vão desencadear uma ativação do sistema apoptótico levando a morte neurocelular, o que faz com que ocorra um défice de neurotransmissores, nomeadamente de acetilcolina, norepinefrina e em

menor quantidade de serotonina. Este défice em alguns dos neurotransmissores é responsável pela maioria das manifestações clínicas da DA (Massoud & Gauthier, 2010).

Em relação à degradação da proteína A β , esta também é mediada a nível enzimático sendo que as duas enzimas envolvidas na sua degradação são a neprilisina (NEP) e a enzima de degradação de insulina (IDE; Swerdlow, 2007). Em doentes com a DA, ambas as enzimas estão diminuídas, sendo visível esta diminuição, em particular no córtex, bem como, no hipocampo, levando a um aumento da concentração de proteína A β no cérebro (Sanabria-Castro et al., 2017). O aumento da proteína A β leva à formação de placas amilóides, principalmente no isocórtex. Assim a progressão da DA prevê três fases (Serrano-Pozo et al., 2011):

- Fase 1- deposição de placas amilóides nos lobos frontal, temporal e occipital;
- Fase 2- deposição de placas amilóides em todas as áreas de associação do isocórtex e leve deposição de placas amilóides no hipocampo;
- Fase 3- deposição de placas amilóides no isocórtex primário, aparecimento de placas amilóides no cerebelo e núcleos subcorticais, bem como corpo estriado, tálamo, hipotálamo e núcleo subtalâmico;

De acordo com a hipótese amilóide, a produção da proteína A β leva à formação de placas amilóides causando neurodegeneração, que por sua vez leva aos sintomas característicos da doença (Castellani et al., 2009).

Hiperfosforilação da proteína τ

Após purificação e identificação da proteína A β nas placas amilóides, detetou-se a presença de uma outra proteína nos emaranhados neurofibrilares característicos na DA (Castellani et al., 2009). Recorrendo à eletroforese percebeu-se que a proteína presente nos emaranhados neurofibrilares apresentava um peso molecular mais elevado quando comparado com a proteína normal, assim, a migração mais lenta demonstrou ser o resultado de uma hiperfosforilação da proteína τ presente nos emaranhados neurofibrilares (Selkoe, 2018).

A proteína τ está normalmente associada aos microtúbulos do axónio, tendo como principal função facilitar o transporte axonal e desta forma, estabilizar e ligar-se aos microtúbulos (Serrano-Pozo et al., 2011). Apesar da proteína τ estar presente em maior quantidade nos neurónios, ela está igualmente presente em todas as células nucleadas uma vez que a sua principal função é a estabilização dos microtúbulos (Castellani et al., 2009). Em

condições fisiológicas normais, a proteína τ é uma proteína altamente solúvel que interage com os microtúbulos das células neuronais de modo a estabilizá-los. Estes microtúbulos têm como função o suporte em alterações estruturais das células, transporte, bem como crescimento neuronal (Sanabria-Castro et al., 2017).

A proteína τ está presente no SNC, sendo que apresenta seis isoformas, essas isoformas diferem na presença de três ou quatro repetições peptídicas compreendendo assim essa zona como a zona de ligação aos microtúbulos (Castellani et al., 2009). Na DA, a proteína τ está presente, no entanto apresenta-se na sua forma hiperfosforilada, dando assim origem a emaranhados neurofibrilares (Serrano-Pozo et al., 2011). Através de alguns estudos, percebeu-se que a hiperfosforilação da proteína está relacionada com uma desregulação na quinase dependente de ciclina (CDK5) que irá hiperfosforilar a proteína τ (Selkoe, 2018). A CDK5 encontra-se aumentada, o que faz aumentar a fosforilação da proteína, e consequentemente reduzir de forma indireta o desenvolvimento das células nervosas, uma vez que as células apresentam uma forma anormal, iniciam o ciclo celular, mas acabam por sofrer apoptose (Congdon & Sigurdsson, 2018). Para além do aumento da CDK5, nos doentes que apresentam DA, as fosfatases, que têm como principal função a remoção dos grupos fosfato, encontram-se diminuídas, aumentando os grupos fosfato no cérebro (Chong, Ng, Koh, & Chye, 2018). Estando a proteína τ hiperfosforilada, esta apresenta uma agregação anormal às proteínas do citoesqueleto, diminuindo a sua interação com os microtúbulos, o que faz com que esta se encontre no SNC na sua forma livre, agregando-se entre si e formando os emaranhados neurofibrilares, responsáveis por um mau funcionamento do transporte axonal (Sanabria-Castro et al., 2017).

Além da hiperfosforilação da proteína, esta também sofre acetilação pela acetiltransferase, induzindo a clivagem do τ e impedindo a ligação da ubiquitina. Assim, a proteína torna-se mais propensa à agregação, tornando-se a sua remoção mais difícil (Congdon & Sigurdsson, 2018). Estas estruturas anormais formadas vão interromper o correto funcionamento do transporte axonal, o que leva à morte celular (Massoud & Gauthier, 2010). Os emaranhados neurofibrilares são então agregados extracelulares da proteína τ hiperfosforilada após a morte neuronal característica da DA (Serrano-Pozo et al., 2011).

Em relação à distribuição dos emaranhados neurofibrilares, estes apresentam uma distribuição estereotipada, sendo previsível a sua distribuição ao longo do agravamento da doença (Perl, 2010). A degeneração neurofibrilar começa no hipocampo espalhando-se para o

córtex, o que faz com que os sentidos sensoriais, motores e visuais não sejam afetados (Serrano-Pozo et al., 2011).

Esta hipótese explica ainda o comprometimento inicial da memória episódica característica da DA, uma vez que há um isolamento das estruturas do lobo temporal em associação com o córtex e núcleos subcorticais, havendo um envolvimento tardio das áreas motoras, sensoriais e visuais (Serrano-Pozo et al., 2011).

Deste modo, verifica-se que ambas as teorias explicam o aparecimento da doença, sendo que a hipótese da cascata amilóide, ainda hoje, é a teoria mais aceite para explicar o aparecimento do Alzheimer (Keene & Montine, 2018).

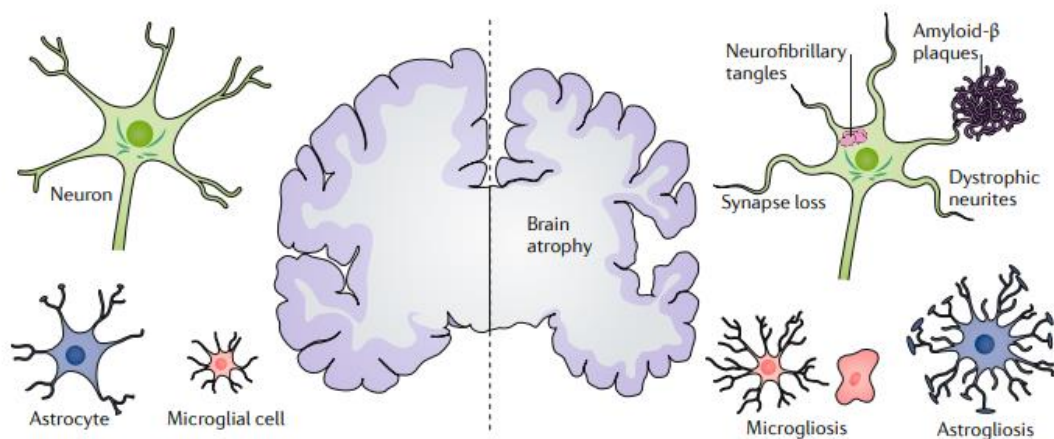


Figura 8-Alterações celulares presentes na DA (Reproduzida de Congdon & Sigurdsson, 2018).

No entanto, é consensual que a hiperfosforilação da proteína τ e a formação das placas amilóides contribuem para alterações neuronais, o que por sua vez leva a uma neurodegeneração (figura 8; Sanabria-Castro et al., 2017).

1.4. Fatores de risco

Para além da idade existem outros fatores de risco associados à DA, tais como a história familiar de demência e a alteração de determinados genes relacionados com a etiologia da doença (Keene & Montine, 2018). No entanto, existem outros fatores de risco, sendo eles fatores que antecedem o aparecimento da doença e que poderão estar associados ao seu aparecimento. Estes fatores podem ser utilizados para avaliar o risco da doença, no entanto no

caso da DA estes não são sensíveis o suficiente de modo a serem utilizados como marcadores no diagnóstico da doença (Reitz et al., 2011).

A história familiar de DA é um dos fatores de risco mais conhecido para o desenvolvimento da doença. Através de estudos, percebe-se que pacientes com parentes em primeiro grau com a doença têm um risco superior compreendido entre 10-30% de apresentarem a doença ao longo da vida. Por outro lado, pacientes com dois ou mais irmãos com a doença têm o triplo do risco de apresentarem a doença numa fase mais tardia, quando comparados com a população em geral (Keene & Montine, 2018).

Ao longo de diferentes estudos, percebe-se que num familiar de primeiro grau, o risco de desenvolvimento da doença diminui consideravelmente caso o familiar tenha sido diagnosticado numa fase tardia de idade (85 anos ou mais), no entanto, o risco é aumentado quando a doença é diagnosticada numa fase precoce (Keene & Montine, 2018).

Foi também possível comparar diferenças existentes em várias etnias (figura 9), sendo que se percebe que parentes em primeiro grau de afro-americanos com DA têm um risco cumulativo superior de apresentarem a doença em relação aos caucasianos (Keene & Montine, 2018).

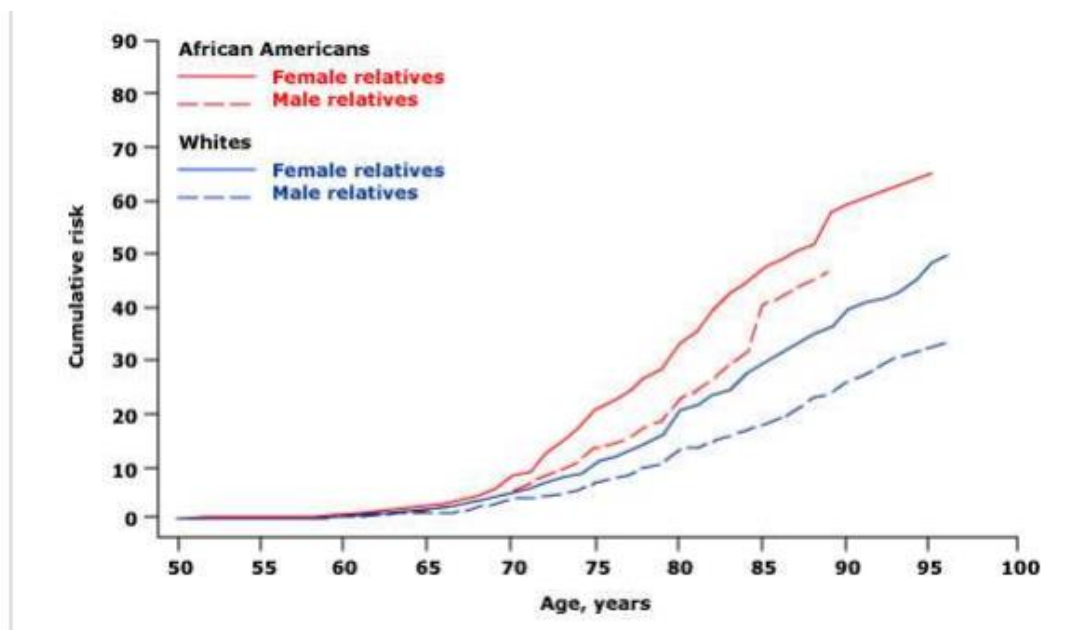


Figura 9- Representa o risco cumulativo do aparecimento da doença de Alzheimer em função dos anos nos diferentes géneros e etnias (Reproduzida de Keene & Montine, 2018).

Existem outros fatores associados ao aparecimento da DA, sendo eles: alterações cerebrovasculares, pressão arterial, alteração da metabolização da glicose e dislipidemia. Alguns estudos demonstraram que quando o paciente apresentava dois ou mais fatores de risco, a probabilidade de deposição de placas amilóides aumentava. Assim, a gestão destes fatores de risco modificáveis torna-se indispensável para atrasar o aparecimento da doença (Keene & Montine, 2018).

Alterações cerebrovasculares- Os acidentes vasculares cerebrais (AVC) sendo eles hemorrágicos ou isquémicos aumentam o risco de desenvolvimento de DA, uma vez que podem levar ao comprometimento da função cognitiva devido (Reitz et al., 2011):

- Danos no tálamo e nas regiões talamocorticais, que são regiões do cérebro essenciais nas funções da memória;
- Aumento da deposição de placas amilóides, levando à deteriorização cognitiva;
- Aumento da resposta inflamatória, que irá prejudicar a função cognitiva;
- Hipoperfusão, que pode levar à sobreexpressão da CDK5, a qual é uma proteína crítica para a formação de sinapses, bem como na aprendizagem e na memória, uma vez que leva à apoptose das células neuronais.

Pressão arterial- Percebe-se que na meia-idade o risco de desenvolvimento de DA aumenta de forma proporcional à elevação da pressão arterial, uma vez que a hipertensão poderá interferir na BHE. Assim, daí pode resultar um extravasamento das proteínas no tecido cerebral que por sua vez vão levar a danos celulares, nomeadamente reduzir a função neuronal e interferir nas sinapses, fazendo com que a deposição de proteína A β aumente (Reitz et al., 2011).

Alteração no metabolismo da glicose- Nos casos de hiperinsulinémia acompanhada de diabetes Mellitus tipo II, o risco de desenvolvimento de DA é aumentado, uma vez que a insulina poderá competir com a proteína A β pela enzima de degradação de insulina, dificultando a degradação da proteína A β que fica depositada no cérebro. Para além disso, o tecido adiposo produz adipocinas e citocinas envolvidos na inflamação e no metabolismo que aumentam com a hiperinsulinémia (Reitz et al., 2011).

Medicamentos- Existem vários estudos que comprovam o aumento do risco de desenvolvimento da DA com algumas classes de medicamentos, entre os quais: benzodiazepinas, anticolinérgicos, anti-histamínicos e opiáceos, no entanto, são presumidos

como estados reversíveis e transitórios, no entanto verifica-se um comprometimento cognitivo que leva a uma fase pré-sintomática da DA ((Keene & Montine, 2018).

Tóxicos- Estudos em animais e em cérebros humanos *postmortem*, demonstram que a exposição ocupacional a tóxicos como fumo do tabaco, pesticidas e poluição atmosférica são considerados fatores de risco para o desenvolvimento de DA pois há um aumento da inflamação no bulbo olfativo, no hipocampo e nos lobos frontais, o que leva a um aumento da deposição de placas amilóides (Keene & Montine, 2018).

Conclui-se que se torna de grande importância o controlo dos fatores de risco modificáveis, de modo a tentar atrasar o máximo possível o aparecimento da doença (Keene & Montine, 2018).

1.5. Terapêutica Farmacológica

Apesar da elevada prevalência da DA, os pacientes continuam a ser diagnosticados numa fase mais tardia da doença, uma vez que os sintomas iniciais da doença muitas vezes são confundidos como um declínio cognitivo normal da idade, como referido anteriormente (Small & Bullock, 2011).

No entanto, até hoje não existe nenhum tratamento eficaz de modo a curar a doença (Small & Bullock, 2011), havendo apenas determinados fármacos aprovados que melhoram, a curto prazo, os sintomas da doença. Estes fármacos não interferem na patologia, no entanto, permitem que o cérebro compense a perda dos neurónios (Duthey & Ph, 2013), sendo que nenhum deles é capaz de travar a deterioração progressiva das funções cognitivas característica da doença (Small & Bullock, 2011).

Os fármacos aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) na DA são os inibidores da colinesterase e a memantina (figura 10), podendo ser utilizados em monoterapia ou em associação, no entanto, torna-se importante esclarecer que estes apenas melhoram a curto prazo (entre seis a dezoito meses) os sintomas da doença (Duthey & Ph, 2013).

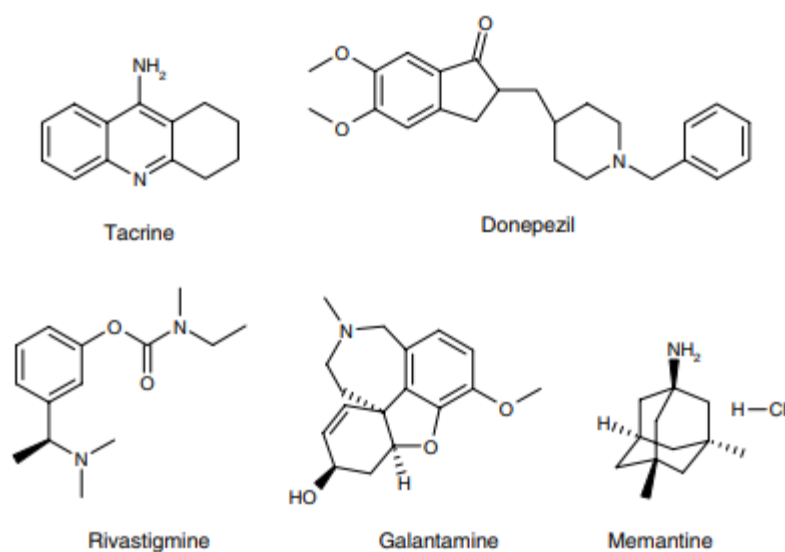


Figura 10- Representa os fármacos aprovados pela FDA para tratamento da Doença de Alzheimer (Reproduzida de Martinez & Castro, 2006).

Alguns estudos demonstram que os inibidores da colinesterase apresentam uma maior eficácia, uma vez que melhoram a função cognitiva, o comportamento, bem como tendem a melhorar as atividades do quotidiano dos doentes. Assim, recomendam-se no início da terapêutica farmacológica, isto é, no estadio mais inicial da doença, de modo a preservar a função cognitiva do paciente (figura 11; Small & Bullock, 2011).

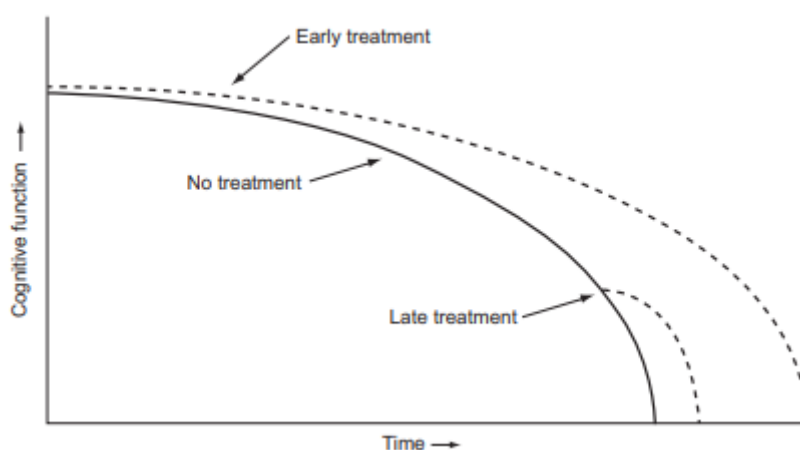


Figura 11- Representa o efeito do tratamento numa fase inicial da doença comparativamente ao tratamento numa fase tardia em relação à função cognitiva (Reproduzida de Small & Bullock, 2011).

Novos fármacos e classes de fármacos têm sido alvo de pesquisas de modo a retardar a evolução da DA, como é o caso da imunoterapia. Outros estão ainda a ser desenvolvidos, tendo como alvos terapêuticos a proteína A β e a proteína τ (Rossor et al, 2016).

Inibidores da colinesterase

De acordo com a hipótese colinérgica da DA, está presente uma perda de função dos neurónios colinérgicos resultando numa perda da função colinérgica, o que leva à perda da função cognitiva (Klafki, Staufenbiel, Kornhuber, & Wiltfang, 2006). Devido à perda de neurónios colinérgicos, foi observada uma redução da atividade da colina acetiltransferase, através de análises *postmortem*, sendo esta enzima responsável pela produção de acetilcolina (Klafki et al., 2006), que é um neurotransmissor envolvido na capacidade de memória, assim como na aprendizagem (Verhoeff, 2005). A observação de uma deficiência na neurotransmissão colinérgica fez com que se desenvolvessem inibidores da colinesterase de modo a melhorar os sintomas da doença (Lleó et al., 2006).

A DA é caracterizada então por níveis baixos de acetilcolina. Assim bloqueando essa degradação deverá ocorrer uma melhoria na função cognitiva onde o papel dos inibidores da colinesterase têm um papel importante (Duthey & Ph, 2013). Os inibidores da colinesterase são um grupo de fármacos que bloqueiam a enzima colinesterase, sendo esta uma enzima catalítica que degrada a acetilcolina (Silvestrelli et al., 2006). Assim, a função destes fármacos passa por aumentar a biodisponibilidade deste neurotransmissor inibindo desta forma a enzima que o degrada (figura 12; Lleó et al., 2006).

Em relação à acetilcolina, esta é produzida pelos neurónios colinérgicos, pela enzima colina acetiltransferase que se encontra em vesículas e é posteriormente libertada da célula pré-sináptica após despolarização. A acetilcolina pode interagir com recetores colinérgicos muscarínicos ou nicotínicos localizados em células pré e pós sinápticas (figura 12). Em células pós-sinápticas essa interação leva a uma atividade bioquímica na célula, enquanto que nas células pré-sinápticas a acetilcolina é libertada na fenda sináptica sendo degradada pela colinesterase (figura 12; Lleó et al., 2006). A inibição da colinesterase faz com que a acetilcolina permaneça durante mais tempo na fenda sináptica de modo a aumentar as combinações com os recetores muscarínicos (figura 12; Silvestrelli et al., 2006).

Os inibidores da colinesterase são largamente utilizados na DA tendo sido aprovados quatro para o tratamento da doença, sendo eles a tacrina, o donepezilo, a rivastigmina e a galantamina. No entanto, a tacrina tornou-se pouco utilizada devido ao seu perfil de segurança, uma vez que causava hepatotoxicidade podendo apenas ser utilizada em doses baixas (Martinez & Castro, 2006).

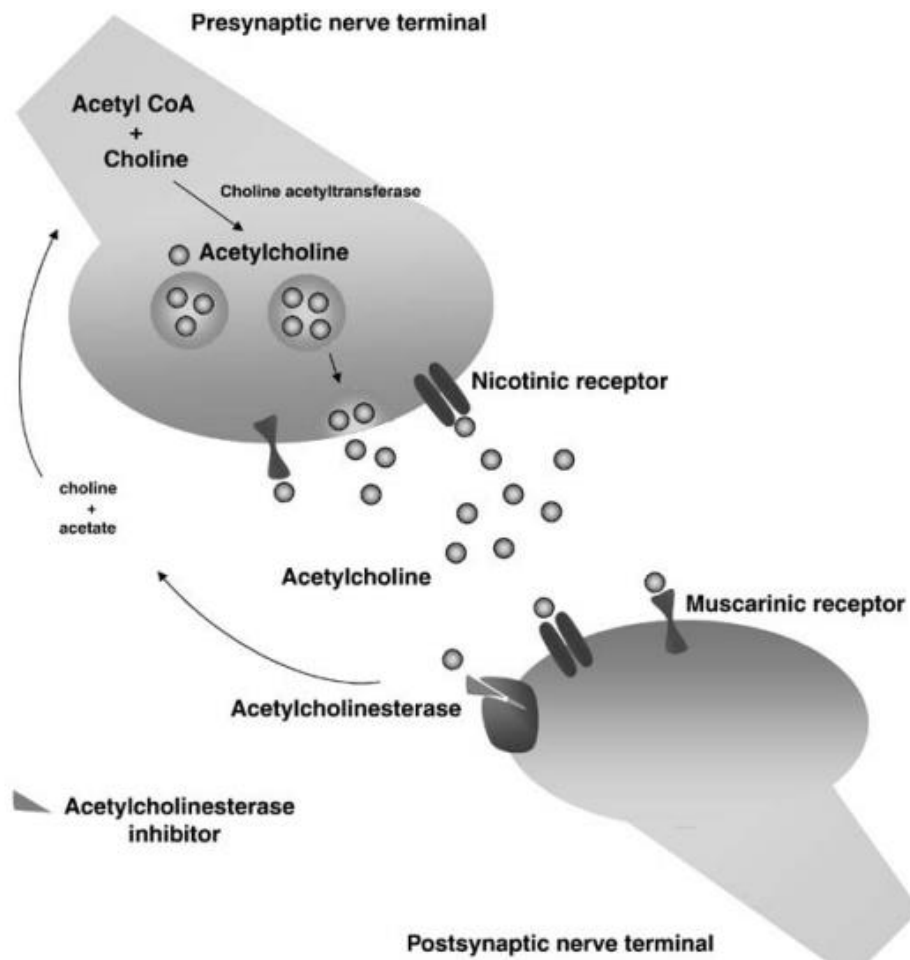


Figura 12-Formação da acetilcolina e mecanismo de ação dos inibidores da colinesterase (Reproduzida de Lleó et al., 2006).

Nos mamíferos está comprovado que existem duas colinesterases: a acetilcolinesterase que hidrolisa a acetilcolina e a butirilcolinesterase que hidrolisa outros ésteres de colina. No entanto, apesar dos vários estudos realizados não se entende ainda o seu papel, apesar de se perceber que a sua inibição se torna relevante na diminuição dos sintomas associados à DA (Grossberg, 2003).

Assim, estudou-se a seletividade dos inibidores da colinesterase para as duas colinesterases, percebendo-se que tanto o donepezilo como a galantamina são mais seletivos para a acetilcolinesterase, enquanto que a rivastigmina consegue inibir ambas com seletividade semelhante (Grossberg, 2003).

Apesar de todos estes fármacos serem inibidores da colinesterase e apresentarem semelhanças possuem diferentes características, sumariadas na tabela 1.

Tabela 1: Características dos diferentes inibidores da colinesterase utilizados no tratamento da DA

Fármaco	Metabolismo Hepático	Interações com fármacos	Reações adversas comuns	Reações adversas raras	Precauções
Donepezilo	Sim CYP1A2 CYP2D6	Cimetidina Cetoconazol Paroxetina Fluoxetina Fluvoxamina	Náusea Diarreia Vómitos	Insónias Pesadelos Tonturas	Problemas cardíacos
Galantamina	Sim CYP2D6 CYP3A4	Paroxetina Fluoxetina Fluvoxamina Cetoconazol Eritromicina	Náusea Diarreia Vómitos Tonturas	Perda de peso Dor de cabeça Dor abdominal Astenia Sonolência	Problemas renais e cardíacos
Rivastigmina	Não	Raras	Náusea Diarreia Perda de peso Vómitos	Tonturas Fadiga Dor de cabeça	Problemas renais e cardíacos

Como já foi anteriormente mencionado, a tacrina, embora aprovada pela FDA como o primeiro fármaco para a DA, não é um fármaco muito utilizado nem comercializado, uma vez, que requer uma administração de quatro vezes por dia estando associado a hepatotoxicidade, requerendo uma monitorização regular das transaminases (Schneider, 2013).

O Donepezilo é um inibidor reversível da acetilcolinesterase tendo uma metabolização principalmente hepática (Lleó et al., 2006) e sendo excretado inalterado na urina. A formulação de libertação prolongada é aconselhada nos doentes com DA moderada a grave (tabela 1; Schneider, 2013).

A Galantamina é um inibidor reversível da acetilcolinesterase sendo mais seletivo para acetilcolinesterase (Lleó et al., 2006) em comparação com a butirilcolinesterase. Este fármaco é metabolizado no fígado e excretado pela urina (tabela 1; Schneider, 2013).

A Rivastigmina é um inibidor pseudo-reversível da colinesterase, uma vez que é seletivo tanto para a acetilcolinesterase, assim como para a butirilcolinesterase (Grossberg, 2003). Está comercializado tanto na forma oral bem como na forma transdérmica, no entanto esta última apresenta menos efeitos adversos. Este fármaco não sofre metabolização hepática sendo hidrolisado e excretado pela urina (tabela 1; Schneider, 2013).

Em relação às reações adversas dos inibidores da colinesterase, estas são semelhantes, estando relacionadas com o sistema gastrointestinal (tabela 1; Apostolova et al, 2012).

Apesar de existirem interações, bem como reações adversas, este grupo de fármacos é largamente utilizado na DA uma vez que no geral, os fármacos são bem tolerados pelos doentes, sendo as reações adversas mais sentidas no início do tratamento, podendo-se contornar esse problema iniciando a terapêutica com doses baixas e, aumentando-se progressivamente ao longo do tempo (Lleó et al., 2006).

Em relação à DA grave, o donepezilo é o único inibidor da colinesterase aprovado pela FDA para esse efeito (Schneider, 2013).

Agentes glutaminérgicos: memantina

O glutamato representa um dos neurotransmissores principais do sistema nervoso, sendo um neurotransmissor excitatório, essencial ao normal funcionamento do cérebro (Klafki et al., 2006). Este neurotransmissor estimula vários recetores sendo um deles o N-Metil-D-Aspartato (NMDA), pelo que se percebeu que era importante na DA estando implicado na formação de memórias (Silvestrelli et al., 2006).

Os recetores do glutamato são recetores ionotrópicos sendo ativados por ligantes permitindo a passagem de iões de cálcio através da membrana em resposta à ligação do ligante (glutamato). Desta forma, na DA devido à estimulação excessiva do recetor NMDA há um aumento de cálcio intracelular, o que leva a um declínio cognitivo e a neurodegeneração (Klafki et al., 2006). O bloqueio do recetor, faz-se para que não exista uma estimulação excessiva por parte do neurotransmissor, uma vez que a estimulação excessiva no recetor poderá levar à perda de neurónios glutaminérgicos (Duthey & Ph, 2013).

Assim, foi desenvolvido um novo fármaco, a memantina, a qual é um antagonista não competitivo do NMDA (Tariot et al., 2004) que se vai ligar ao recetor, evitando a excitação usualmente verificada na DA (Apostolova et al, 2012).

Em relação às suas características estas encontram-se resumidas na tabela seguinte.

Tabela 2: Características da memantina

Fármaco	Metabolismo Hepático	Interações com fármacos	Reações adversas comuns	Reações adversas raras	Precauções
Memantina	Não	Raras	Alucinações Tonturas Dor de Cabeça Confusão	Cansaço	Problemas renais

A memantina é utilizada na DA moderada a grave quando os inibidores da colinesterase não são bem tolerados pelo doente ou quando perderam a sua eficácia. Apesar da sua afinidade moderada para com o recetor é dentro do seu grupo farmacológico o fármaco mais utilizado, uma vez que a cetamina e a amantina têm uma alta afinidade com o recetor causando efeitos neuropsicológicos (Silvestrelli et al., 2006).

Este fármaco é bem absorvido mesmo na presença de alimentos no trato gastrointestinal e apresenta uma biodisponibilidade de 100%. A sua metabolização hepática é mínima e por isso as interações são raras. Quanto à sua excreção, a memantina é excretada pela urina na sua forma inalterada (Schneider, 2013).

Assim, percebe-se que apesar das reações adversas existentes, este fármaco é bem tolerado uma vez que não são conhecidos sintomas gastrointestinais. Dado que é um fármaco seguro é muitas vezes utilizado como terapêutica na DA moderada a grave (Tariot et al., 2004).

Terapêutica combinada

Através de alguns estudos percebeu-se que a memantina não interagia com os inibidores da colinesterase sendo assim a sua administração combinada com outros fármacos de outros grupos, nomeadamente inibidores da colinesterase, uma abordagem terapêutica relevante na DA (Wenk, Quack, Moebius, & Danysz, 2000), uma vez que, a combinação do donepezilo com a memantina leva a uma melhoria na cognição, atividades diárias e sintomas psiquiátricos (Apostolova et al, 2012). Sendo a memantina bem como o donepezilo, fármacos

considerados seguros, recomenda-se assim, esta combinação como tratamento de primeira linha na DA moderada a grave e apenas a memantina em monoterapia como tratamento de segunda linha, no entanto, a memantina deve ser usada com cuidado em doentes que apresentem insuficiência renal grave, insuficiência hepática e epilepsia (Matsunaga et al., 2018). Apesar da terapêutica combinada demonstrar uma melhoria na função cognitiva, esta apenas consegue atrasar a progressão da doença, logo, torna-se essencial a descoberta de fármacos que interfiram na fisiopatologia da DA (EMA, 2018).

2. Genes envolvidos na doença de Alzheimer

Para além da idade, um dos fatores de risco para o aparecimento da DA é a história familiar da doença (Apostolova et al, 2012). Os casos de DA relacionados com mutações representam 79% de todos os casos (Rossor et al, 2016).

A história familiar de Alzheimer apresenta duas formas: início precoce da doença e surgimento da doença numa idade tardia (Clark, 2018). O início precoce da doença está relacionado com um padrão hereditário autossómico dominante e representa cerca de 1% dos casos. O aparecimento da doença ocorre antes dos 65 anos, normalmente entre o final dos 40 anos e dos 50 anos (Zou, Liu, Che, & Huang, 2014). Os casos de início precoce da DA estão relacionados essencialmente com três genes, sendo eles o *APP*, o da presenilina 1 (*PSEN1*) e o da presenilina 2 (*PSEN2*). Caso surjam mutações nestes genes irão afetar a produção, a agregação e/ou a produção de proteína A β (Clark, 2018).

A história familiar de Alzheimer numa fase tardia representa cerca de 99 % dos casos, aparecendo apenas após os 65 anos de idade e está relacionada com diversos fatores etiológicos, entre os quais alguns epigenéticos como a Apolipoproteína E (APOE; Brouwers, Sleegers, & Van Broeckhoven, 2008).

Também estão descritos outros genes relacionados com o aparecimento da doença, incluindo variantes alélicas, entre as quais se destaca o recetor 1 relacionado com a Sortilina (*SORL1*), clusterina (*CLU*) e Fosfatidilinositol de ligação à proteína de montagem clatrina (*PICALM*; Apostolova et al, 2012).

2.1. Percursor da proteína β -amilóide

A primeira mutação conhecida no gene da *APP* foi descoberta em 1991 demonstrando-se pela primeira vez o envolvimento de um gene na fisiopatologia da DA, causando assim um início precoce da doença (Carmona, Hardy, & Guerreiro, 2018).

Os adultos que apresentem trissomia 21, têm maior risco para desenvolverem DA com início precoce, visto que o gene da *APP* se encontra neste cromossoma (Clark, 2018). Assim, há uma sobreexpressão do gene, o que aumenta o nível de proteína APP podendo ocorrer mais mutações e acumulação de proteína A β (Brosch et al., 2018).

A primeira mutação descoberta está relacionada com a troca de Val717Ile na APP, seguindo um padrão dominante com penetração completa. Por norma, todas as mutações na APP seguem um padrão hereditário dominante, mas descobriu-se que a mutação Ala673Val apenas leva à DA quando está no estado de homozigótico. Assim, indivíduos heterozigóticos não apresentam manifestação da doença (Carmona et al., 2018).

Após a descoberta da primeira mutação relacionada com a fisiopatologia da DA, foram investigadas novas mutações e identificaram-se 33 mutações em sítios diferentes da APP, sendo destas 23 mutações *missense* (sentido errado), 9 duplicações e 1 deleção (Zou et al., 2014).

As mutações na APP situam-se em diversos locais da proteína: próximas à clivagem β -secretase - onde se encontram a maioria das mutações *missense*, entre os aminoácidos 670-682- próximas à clivagem γ -secretase, entre os aminoácidos 713-724 e na sequência da proteína A β , entre os aminoácidos 692-705 (Ringman et al., 2014).

Enquanto as mutações perto da zona de clivagem β -secretase levam a um aumento da quantidade produzida de proteína A β , as mutações perto da γ -secretase levam a um aumento da produção A β 42, sendo esta a forma de proteína mais insolúvel. Mutações na sequência da proteína alteram a agregação da proteína a oligómeros, levando a uma maior deposição de proteína em placas (Ringman et al., 2014).

Recentemente, num estudo realizado na população islandesa, foi descoberta uma mutação protetora da APP: A673T, próximo da zona de atividade da β -secretase que resulta numa redução da produção de proteína A β 40 e 42 aminoácidos, o que leva a uma redução do risco de aparecimento da DA (Van Cauwenberghe, Van Broeckhoven, & Sleegers, 2016).

2.2. Proteína presenilina

Através de diversos estudos, percebeu-se que a DA não se encontra sempre associada a mutações na APP (gene presente no cromossoma 21). A DA familiar de início precoce pode estar relacionada igualmente com um gene presente no cromossoma 14, que codifica para a proteína presenilina 1 (PSEN1) e com o cromossoma 1, que codifica para a proteína presenilina 2 (PSEN2; Brouwers et al., 2008).

A *PSEN1*, expressa-se em grande parte nos tecidos e células como cérebro, medula espinal e neurónios, enquanto que a *PSEN2* é expressa maioritariamente no cérebro, tendo uma estrutura semelhante à *PSEN1* mas é menos expressa que a primeira (Padilla, C, Issacson, 2011). As proteínas *PSEN1* e *PSEN2* são importantes na DA, uma vez que estas clivam a APP de modo a produzir proteína A β . Deste modo, mutações nestas proteínas alteram a normal produção da proteína, sendo elas de carácter autossómico dominante na sua maioria (Veugelen, Saito, Saido, Chávez-Gutiérrez, & De Strooper, 2016). Em relação ao gene da *PSEN1*, foram identificadas 230 mutações diferentes, das quais 204 mutações estão relacionadas com a DA. A maior parte das mutações são *missense*, mas também ocorrem pequenas deleções e inserções resultando numa alteração dos aminoácidos e consequentemente na matriz de leitura e na proteína traduzida (Sutovsky et al., 2018). As mutações no gene *PSEN2* são menos conhecidas, tendo-se identificado até ao momento 38 mutações no gene mas apenas 16 classificadas como relacionadas com a patologia da doença (Roher, Maarouf, & Kokjohn, 2016). Quanto à gravidade e ao aparecimento da doença causada pelas mutações os genes *PSEN1* e *PSEN2*, sabe-se que as mutações no *PSEN1* causam formas mais graves de DA e o início da doença pode ocorrer a partir dos 25 anos. Relativamente às mutações no *PSEN2*, normalmente fazem com que o aparecimento da doença seja mais tardio, podendo ocorrer entre os 39-83 anos (Van Cauwenberghe et al., 2016).

Assim, destacam-se as mutações que codificam para as presenilinas, as quais vão contribuir para a produção de proteína A β com 42 aminoácidos, sendo esta conhecida como a forma mais insolúvel da proteína, depositando-se em placas, levando ao aparecimento de DA (Sutovsky et al., 2018).

2.3. Apolipoproteína E

A Apolipoproteína E (APOE) é uma glicoproteína polimórfica expressa no fígado, cérebro, macrófagos e monócitos. Esta está implicada no transporte do colesterol, no crescimento neuronal, na resposta às lesões nos tecidos, na regeneração nervosa, na imunorregulação e na ativação de enzimas (Van Cauwenberghe et al., 2016).

Na DA, a APOE está envolvida na depuração da proteína A β , uma vez que se liga a recetores LRP-1 importantes nesse processo. Assim, alterações na APOE vão alterar a acumulação da proteína no cérebro (Ray, Ahalawat, & Mondal, 2017). A APOE

é codificada no cromossoma 19 e apresenta três isoformas na população: APOE2, APOE3 e APOE4, sendo que as isoformas dependem dos aminoácidos presentes nos codões 112 e 158 (Padilla, C, Issacson, 2011). A APOE2 apresenta duas cisteínas, uma no codão 112 e outra no codão 158; a APOE3 apresenta uma cisteína no codão 112 e uma arginina no codão 158; enquanto que a APOE4 apresenta duas argininas, uma no codão 112 e outra no codão 158. A isoforma de APOE4 é um dos principais fatores de risco para o aparecimento da DA, pois esta isoforma é rapidamente catabolizada devido às mudanças estruturais existentes, o que não permite a ligação com o LRP-1, levando a uma menor depuração da proteína A β , ficando esta depositada no cérebro (Carmona et al., 2018). O alelo APOE4 aumenta o risco do desenvolvimento de DA com um início tardio numa família, uma vez que o risco é aumentado para três vezes quando o portador é heterozigótico com um alelo de APOE4 e um alelo de APOE3. Quando o portador é homozigótico para os alelos APOE4 o risco é aumentado quinze vezes, sendo a idade de início da doença dependente da expressão do gene. Na população Mundial, 20-25 % das pessoas são portadoras do alelo APOE4, sendo que, apresentam um risco aumentado para o desenvolvimento da doença, pois, 40-60 % dos casos de DA são associados à presença deste alelo (Van Cauwenberghe et al., 2016). Assim, foi proposta a utilização da genotipagem da APOE aquando de um declínio cognitivo acentuado (Yu, Tan, & Hardy, 2014). Por outro lado, através de alguns estudos concluiu-se que portadores do alelo APOE2, apresentavam menor risco para o desenvolvimento da doença, uma vez que esta isoforma é lentamente catabolizada ligando-se em maior quantidade aos recetores LRP-1. Desta forma, ocorre uma maior depuração de proteína A β . Assim, esta isoforma tem um efeito protetor para a DA conseguindo retardar o seu aparecimento (Padilla, C, Issacson, 2011).

Assim, doentes portadores do alelo APOE4 apresentam uma progressão mais rápida da doença devido ao aumento da deposição de placas amilóides no cérebro, sendo este um biomarcador importante para determinar por um lado a suscetibilidade à doença, mas também o seu prognóstico e severidade (Richard E. Kennedy, Gary R. Cutter, 2014).

2.4. Outros grupos de genes envolvidos

O estudo do perfil genético de doenças complexas como o DA, fez com que se conseguisse associar o aparecimento da doença a mutações hereditárias (Van

Cauwenberghe et al., 2016). Os estudos assentaram na descoberta de alterações genéticas relacionadas com polimorfismos de nucleótido único (SNP's; Padilla, C, Issacson, 2011).

Estudos de associação genómica em 2007, possibilitaram a identificação de novos genes, para além de *APP*, *PSEN1* e *PSEN2* e *APOE*, que são associados ao início da DA (Zou et al., 2014).

Clusterina

O gene da clusterina, localizado no cromossoma 8, foi identificado em 1990 como uma proteína implicada/envolvida na DA, uma vez que se percebeu que nos doentes esta proteína se encontrava com uma expressão aumentada no hipocampo (Padilla, C, Issacson, 2011).

A clusterina (CLU) , também conhecida como apolipoproteína J, é associada a processos antiapoptóticos, estando envolvida na proteção contra o *stress* oxidativo. Foi detetado um SNP no gene da *CLU*, aumentando a sua expressão, o que faz com que os portadores apresentem um maior risco de desenvolvimento de DA, dado que os processos antiapoptóticos se encontram aumentados (Sapkota & Dixon, 2018).

Recetor 1 relacionado com a Sortilina

O gene do recetor 1 relacionado com a Sortilina está localizado no cromossoma 11 e pensa-se que esteja igualmente associado com o aparecimento da DA numa fase mais tardia (Carmona et al., 2018).

O recetor 1 relacionado com a Sortilina (SORL1) é uma proteína que está envolvida na endocitose e na entrega de lipoproteínas e proteases ao complexo de Golgi e ao reticulo endoplasmático. Esta proteína atua na APP, fazendo com que esta seja clivada pela α -secretase, diminuindo desta forma a produção de proteína A β (Le Guennec et al., 2018). Para além disso, esta proteína também se liga à proteína A β já produzida levando-a para o compartimento lisossomal para ser eliminada. Assim, alterações nos níveis e/ou funções da proteína SORL1 levam a um aumento da carga amilóide (Carmona et al., 2018).

Foram identificadas nove SNP's no gene que codifica para a proteína SORL1 e percebeu-se que quatro dessas variantes diminuía o risco de DA, uma vez que aumentavam a atividade da proteína. No entanto, as restantes SNP's identificadas aumentavam o risco de DA, pois a atividade da proteína ficava comprometida (Carmona et al., 2018).

Fosfatidilinositol de ligação à proteína de montagem clatrina

O gene da fosfatidilinositol de ligação à proteína de montagem clatrina localiza-se no cromossoma 11 estando esta proteína, fosfatidilinositol de ligação à proteína de montagem clatrina (PICALM), envolvida tanto na formação como no metabolismo da proteína A β (Padilla, C, Issacson, 2011). Alguns estudos de genómica, comprovaram que a mutação rs3851179 por substituição de citosina por timina leva a um aumento do risco de DA, pois está-lhe associada uma diminuição do LCR e um aumento da deposição de proteína A β no cérebro (Sapkota & Dixon, 2018) por outro lado, a variante alélica rs3851179A apresenta um efeito protetor na DA pois aumenta a expressão da PICALM (Wang et al., 2016).

Assim, acredita-se que este gene está também envolvido no aumento do risco da DA, uma vez que mutações aí localizadas conduzem a um aumento de proteína A β no cérebro (Van Cauwenberghe et al., 2016).

Recetor 1 do complemento

O gene do recetor 1 do complemento encontra-se localizado no cromossoma 1 e está presente em diversas células como eritrócitos, leucócitos e células dendríticas, facilitando a absorção e a remoção de complexos imunes (Carmona et al., 2018). O recetor 1 do complemento (CR1) está relacionado com a DA, uma vez que atua como recetor na depuração da proteína A β 42 do cérebro e do Sistema Circulatório (Sapkota & Dixon, 2018).

Foram encontrados diversos SNP's no gene do *CR1*, estando estes associadas à DA pois diminuem a atividade do CR1, o que por sua vez aumenta a acumulação de proteína A β 42 no cérebro (Sapkota & Dixon, 2018).

A procura de fatores genéticos que contribuem para o desenvolvimento da DA, melhorou os conhecimentos sobre a fisiopatologia da doença e associou-se a doença a alterações no genoma, sendo essas alterações hereditárias (Zou et al., 2014).

Nas últimas duas décadas aumentou o conhecimento genético da doença, passando-se de três genes envolvidos na DA, descobertos nos anos 90, para mais de 20 *loci* que devido a diferentes variantes vão interferir igualmente na doença (Carmona et al., 2018).

O conhecimento na área da Genética torna-se fulcral, não só para aumentar a capacidade de diagnóstico precoce ou de suscetibilidade a DA, mas também de modo a serem investigadas novas abordagens terapêuticas, uma vez que a terapia génica tem um potencial enorme na modificação da doença, como o uso de enzimas degradativas (Van Cauwenberghe et al., 2016).

O novo desafio na genética da DA, inclui o desenvolvimento de novos métodos analíticos e melhoria dos já existentes, de forma a serem descobertos novos *loci* de risco e a identificar novos alvos terapêuticos potenciais no combate à doença (Carmona et al., 2018).

3. Novas perspectivas e estratégias no tratamento da Doença de Alzheimer

As terapêuticas já existentes para o tratamento da DA incluem os inibidores da colinesterase e os antagonistas do recetor NMDA, como referido anteriormente, no entanto, estes apenas têm uma eficácia moderada, assim torna-se importante desenvolver novas terapêuticas de modo a serem mais eficazes na doença (Apostolova et al, 2012).

Muitas das novas terapêuticas desenvolvidas estão relacionadas com os biomarcadores da doença, ou seja, centram-se na diminuição ou inibição da produção anormal de proteína A β e na hiperfosforilação da proteína τ (Rossor et al, 2016).

3.1. Terapêutica de acordo com a Hipótese Amilóide

A produção de proteína A β é um dos biomarcadores da DA, depositando placas desta proteína insolúvel no cérebro, assim, as novas terapêuticas têm como principal alvo a diminuição ou inibição da produção de proteína A β (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2013).

Modulação da produção de proteína A β

A proteína A β é produzida a partir da APP que por ação de duas proteases, β -secretase e γ -secretase, originam uma proteína insolúvel que irá formar placas amilóides (Salomone, Caraci, Leggio, Fedotova, & Drago, 2012). Na abordagem terapêutica da modulação da produção da proteína A β , inibe-se a β -secretase e a γ -secretase aumentando a ação da α -secretase diminuindo desta forma a produção de proteína A β . A potenciação de α -secretase é feita pelo Etazolato que estimula a atividade de α -secretase inibindo a morte neuronal e atrasando a progressão da DA (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2013).

A terapêutica de inibição da β -secretase é uma terapêutica promissora, no entanto, percebe-se que poderá ser problemática uma vez que esta enzima está envolvida em alguns processos fisiológicos, podendo a sua inibição não ser segura, por outro lado, os potenciais fármacos capazes de inibir a enzima, não conseguem atravessar a BHE (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2013).

Em relação à inibição da γ -secretase, apesar desta ter um papel essencial na formação de proteína A β , a sua inibição apresenta muitas dificuldades porque esta enzima intervém na clivagem de outros substratos sendo necessário restringir a terapêutica apenas à APP (Silvestrelli et al., 2006).

Para além disso, o semagacestat, um inibidor da γ -secretase, entrou em ensaios clínicos de fase III mas foi interrompido por causa dos efeitos prejudiciais a nível da cognição dos pacientes (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2013).

Inibição da agregação

A agregação dos monómeros A β vão formar uma estrutura oligomérica que provoca toxicidade associada às placas A β , assim a prevenção da formação destas estruturas tem sido considerada uma abordagem promissora no tratamento da DA. Deste modo, outra alternativa será a redução da formação de placas amilóides, impedindo a formação de oligómeros através de quelantes, visto que a agregação e a estabilização das placas está relacionado com o zinco e o cobre sendo estes catalisadores da reação (Salomone et al., 2012).

A inibição da agregação já foi estudada e procedeu-se de forma indireta, utilizando-se o Clioquinol (PBT-1), um quelante do zinco e do cobre capaz de atravessar a BHE, impedindo a formação de novos agregados de proteína A β (Klafki et al., 2006).

Imunoterapia na cascata amilóide

A imunoterapia é uma das perspetivas futuras de tratamento na DA no entanto, esta assenta em seis mecanismos para a depuração da proteína A β sendo eles: a deterioração das placas amilóides por interação com anticorpos; a ativação de microglia pelos anticorpos levando à fagocitose da proteína; a ativação de fagocitose de células microgliais; a neutralização de oligómeros solúveis tóxicos; o aumento da depuração de células que compõe as placas amilóides e a ativação de IgM (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2013).

A imunização pode ser feita através de imunização ativa, usando A β 42 sintético de modo a induzir uma resposta imune através da produção de anticorpos, ou de,

imunização passiva usando anticorpos monoclonais que interfiram em diversas regiões da A β 42 (Salomone et al., 2012).

Os primeiros ensaios de imunização em humanos foram feitos recorrendo à imunização ativa, com o A β 1-42 (AN1792). Esse estudo foi interrompido devido à ocorrência de meningoencefalite, no entanto, através de observações *postmortem* concluíram que o uso da imunização irá reduzir a deposição de placas amilóides (Vandenberghe et al., 2017).

As reações adversas decorrentes da imunização ativa, estão relacionadas com a resposta das células T, então, a imunização ativa deve centrar-se no epítopo da célula B para a proteína A β e na produção de anticorpos que consigam evitar a inflamação desencadeada pelas células T (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2013).

Assim, foram desenvolvidas novas vacinas com epítopos altamente específicos para a célula B da proteína A β de modo a diminuir as reações adversas. O estudo com o amilomotide (CAD-106), encontra-se em ensaios clínicos de fase II/III pelo que se percebe que é bem tolerada induzindo uma resposta imunitária específica para a proteína A β (Fettelschoss, Zabel, & Bachmann, 2014). A fase clínica de fase II/III teve início em novembro de 2015 estando previsto acabar em 2024 (Institute, (NIA), Association, & Amgen, 2018).

Em relação à imunização passiva, são usados anticorpos monoclonais, no entanto, os anticorpos têm que ser administrados várias vezes em doses altas e o início da produção de anticorpos é lento (Fettelschoss et al., 2014).

Os anticorpos monoclonais desenvolvidos não são seletivos, uma vez que se podem ligar à proteína A β solúvel (Salomone et al., 2012).

Os ensaios clínicos com Bapineuzumab e Solanezumab, ambos anticorpos monoclonais, foram terminados em fase III (Abushouk et al., 2017). O Bapineuzumab demonstrou uma eficácia reduzida na função cognitiva uma vez que se liga tanto à forma solúvel como à insolúvel, o que leva ao aumento de proteína A β no LCR. Assim, os ensaios clínicos foram parados, em julho de 2012 (Pfizer, 2016). O Solanezumab, apresenta eficácia, no entanto, apenas na DA leve pois não tem afinidade com as placas amilóides. Assim, o ensaio clínico foi parado em fase III, em julho de 2018, devido a evidências científicas insuficientes (Company, 2018).

3.2. Terapêutica na Hiperfosforilação do τ

Os emaranhados neurofibrilares característicos da DA estão associados à proteína τ hiperfosforilada (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2013). Com as dificuldades observadas na terapia que visava a proteína $A\beta$, procurou-se novas terapias que envolvessem a proteína τ (Chong et al., 2018).

Fosforilação da proteína τ

Como referido anteriormente, a hiperfosforilação da proteína τ leva à formação de emaranhados neurofibrilares característicos da DA. Como a hiperfosforilação da proteína está relacionado com diversas quinases torna-se importante a investigação de inibidores de quinases que interferem na fosforilação. A hiperfosforilação da proteína τ deve-se à ativação de diversas quinases, principalmente a CDK5 e a quinase glicogénio sintetase isoforma β (GSK-3 β ; Salomone et al., 2012).

O lítio, usado na doença bipolar como um estabilizador do humor é um inibidor da GSK-3 β podendo prevenir a fosforilação da proteína τ e por isso prevenir a toxicidade desta. O tratamento com lítio demonstrou uma diminuição das concentrações de τ no LCR, uma vez que este consegue passar a BHE, conjugado com uma melhoria na função cognitiva. No entanto, devido à sua toxicidade em doses altas, foram usadas doses baixas resultando numa estabilização dos sintomas cognitivos (Congdon & Sigurdsson, 2018).

Outro inibidor da GSK-3 β é o valproato de sódio, usado na epilepsia e no tratamento do humor, mas este fármaco não demonstrou nenhuma melhoria na cognição revelando reações adversas inaceitáveis, entre as quais: quedas, infeções e alterações gastrointestinais, o que fez com que o uso deste fármaco na DA não fosse recomendado (Salomone et al., 2012).

Recentemente foi testado o tideglusib, um inibidor da GSK-3 β , apesar de bem tolerado percebeu-se que não teria melhorias a nível cognitivo (Congdon & Sigurdsson, 2018).

Outra abordagem na inibição da atividade das quinases é ativação da fosfatases, visto que na DA a sua atividade se encontra diminuída. Percebeu-se que a proteína

fosfatase 2A (PP2A) é a fosfatase responsável na fosforilação da proteína τ , sendo por isso um alvo terapêutico promissor (Chong et al., 2018).

A metformina e as Sulfonilureias foram estudados, sendo que se percebeu que estes fármacos conhecidos para o tratamento de diabetes tipo II, podem ser importantes na DA, uma vez que promovem a atividade de PP2A, diminuindo desta forma a hiperfosforilação da proteína τ (Rotermund, Machetanz, & Fitzgerald, 2018).

Outro fármaco ativador da PP2A é o selenato de sódio, que mostrou reduzir a hiperfosforilação da proteína τ , diminuindo a formação de emaranhados neurofibrilares, melhorando desta forma a função cognitiva (Chong et al., 2018).

Estabilização do microtúbulo

Na DA, há uma destabilização dos microtúbulos devido à inibição da tubulina causada pela hiperfosforilação da proteína τ o que origina uma disfunção neuronal. Assim, um possível tratamento na DA teria como alvo a estabilização dos microtúbulos (Chong et al., 2018).

Um estabilizador do microtúbulo, o paclitaxel, um fármaco já conhecido e utilizado como antitumoral, foi testado e demonstrou uma melhoria no transporte axonal e nos microtúbulos, mas devido à sua fraca permeabilidade na BHE demonstrou que este não seria adequado para o tratamento da DA (Götz, Ittner, & Ittner, 2012). Outro composto pertencente também ao grupo dos taxanos, encontra-se atualmente em ensaios clínicos, o TPI-287 (abeotaxano). Este mostrou eficácia a atravessar a BHE, estando a ser testado para a DA leve a moderada. Espera-se que o estudo esteja concluído em dezembro de 2018 (Congdon & Sigurdsson, 2018).

O BMS-241027 também conhecido como epotilona D, é um estabilizador do microtúbulo sendo um derivado sintético do taxol. Este fármaco foi testado e percebeu-se que levava a melhorias na função cognitiva, pois promove a regeneração do axónio após lesões. No entanto, devido aos efeitos neurotóxicos causados, o tratamento com epotilona D foi abandonado (Bakota & Brandt, 2016).

Um outro agente com ação anti-mitótica, o davunetide (NAP), um péptido derivado da proteína neuroprotetora com atividade-depedente (ADNP) mostrou uma

redução na hiperfosforilação da proteína τ levando a uma estabilização dos microtúbulos (Bakota & Brandt, 2016).

Ensaio clínico de fase II com NAP, mostraram que este fármaco é seguro e bem tolerado quando administrado por via intranasal, no entanto não demonstra eficácia na DA moderada a grave, sendo apenas útil quando há comprometimento cognitivo leve (Chong et al., 2018).

Inibição da agregação da proteína τ

Um outro mecanismo na terapêutica da hiperfosforilação da proteína τ , é a inibição da agregação da proteína, uma vez que essa agregação leva à produção de emaranhados neurofibrilares insolúveis que levam a neurodegenerescência (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2013).

Foram identificados diversos compostos que inibem a agregação da ligação τ - τ , sendo um deles o azul de metileno que bloqueia a polimerização, prendendo os monómeros da proteína τ não permitindo a agregação (Chong et al., 2018).

O azul de metileno consegue atravessar a BHE e demonstrou melhorar a função cognitiva (Congdon & Sigurdsson, 2018), no entanto, apesar dessa melhoria a dose utilizada era inferior à necessária para inibição da agregação da proteína, o que levou à síntese de um composto análogo, o Metiltionínio (LMTX; Bakota & Brandt, 2016).

O LMTX encontra-se em ensaios clínicos de fase III e demonstrou ser mais estável e menos tóxico em concentrações elevadas, estando indicado na DA leve a moderada (Congdon & Sigurdsson, 2018).

Imunoterapia na hiperfosforilação da proteína τ

A imunoterapia pode ser separada entre imunização ativa e passiva. A imunização ativa consiste em administrar o agente patogénico de modo a desencadear uma resposta imunitária contra a proteína τ , por outro lado, a imunização passiva consiste numa abordagem com anticorpos monoclonais (Pedersen & Sigurdsson, 2015).

A imunização tona-se importante na DA, uma vez que, foi demonstrado que os anticorpos conseguem passar a BHE gerando assim uma resposta imunitária (Bakota & Brandt, 2016).

As primeiras vacinas produzidas recorreram à imunização ativa sendo a resposta imune rápida, no entanto, apenas ocorre uma pequena redução da hiperfosforilação da proteína τ , resultando num melhor desempenho motor. Assim, a imunização ativa vai atrasar a progressão da doença, mas pode levar a uma resposta autoimune (Chong et al., 2018).

Em relação à imunização passiva, esta oferece maior segurança que a imunização ativa, uma vez que não são reportadas respostas autoimunes, no entanto, o tratamento deve ser adaptado à progressão da doença (Congdon & Sigurdsson, 2018).

Nos testes realizados em animais, a imunização passiva com o péptido do axónio 108 conjugado com hemocianina (AADvac1), resultou numa produção de anticorpos que conseguem penetrar os neurónios impedindo a agregação da proteína τ . Esta vacina está de momento em ensaios clínicos de fase II tendo previsão de conclusão para junho de 2019 (Congdon & Sigurdsson, 2018).

A imunoterapia tendo como alvo a proteína τ , demonstrou ter um papel importante na DA, dado que reduz o grau de fosforilação da proteína eliminando a concentração de aglomerados insolúveis, mas torna-se necessário mais estudos de modo a garantir a segurança e a eficácia para o tratamento nesta patologia (Chong et al., 2018).

3.3. Terapêutica antioxidante

O *stress* oxidativo, desempenha um papel importante nas doenças neurodegenerativas, uma vez que há um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes o que leva a alterações nas células, tecidos e órgãos (Fernandes, Castro, & Oliveira, 2011).

O *stress* oxidativo resulta de um desequilíbrio originado por um excesso de radicais livres e/ou pela redução de antioxidantes. O aumento da capacidade aeróbia aumenta a produção de oxigénio reativo aumentando a autocatálise da peroxidação lipídica que irá danificar as membranas celulares (Chang, Cheng, Chiang, & Chen, 2018).

O SNC é particularmente vulnerável ao *stress* oxidativo devido à utilização de oxigénio, assim, necessita de antioxidantes complexos com o objetivo de manter o balanço oxidativo, mas percebe-se que com a idade há uma diminuição das defesas antioxidantes o que pode levar a alterações neuronais como acontece na DA (Chang et al., 2018).

O uso de antioxidantes tem como finalidade combater as espécies reativas, neutralizando os radicais livres, de modo a contribuir contra o envelhecimento precoce (Chang et al., 2018).

Assim, devido à presença de espécie reativas de oxigénio na DA torna-se interessante o uso de antioxidantes exógenos (Fernandes et al., 2011), uma vez que estes inibem o efeito tóxico da proteína A β e do radical anião superóxido (Lleó et al., 2006).

- **Vitamina E**

A vitamina E é um antioxidante lipofílico presente no cérebro tendo como função proteger os lípidos do *stress* oxidativo (Chang et al., 2018). Ela interage com as membranas das células, retém os radicais livres de modo a interromper o mecanismo que danifica as células (Silvestrelli et al., 2006).

Em relação ao tratamento da DA com vitamina E, percebeu-se que nos casos de DA leve a moderada, o tratamento irá atrasar o declínio cognitivo, assim, sugere-se o uso de antioxidantes para retardar o processo cognitivo da DA. A utilização de antioxidantes poderá ser realizada em associação com outros fármacos pertencentes a outros grupos terapêuticos (Chang et al., 2018).

- **Selegilina**

A selegilina é um inibidor da monoamina oxidase, que pode ser eficaz no tratamento da DA uma vez que a monoamina oxidase estimula a oxidação no cérebro, aumenta os níveis de catecolaminas aumentando desta forma a estimulação adrenérgica, o que melhora os efeitos cognitivos da DA (Silvestrelli et al., 2006).

Apesar dos benefícios, a selegilina não é usada na terapêutica da DA uma vez que tem interação com um grande número de fármacos, causando diversos problemas de segurança (Silvestrelli et al., 2006).

- **Ginkgo biloba**

O extrato de Ginkgo biloba, EGb 761, apresenta propriedades antioxidantes e reduz a agregação da proteína A β característica da DA (Lleó et al., 2006).

Além disso, este extrato é bastante utilizado por indivíduos idosos e doentes com demência uma vez que melhora os níveis cognitivos em especial a memória, o raciocínio e a perceção em indivíduos com DA, tendo um efeito protetor nos neurónios especialmente no envelhecimento (Schneider, 2013).

3.4. Tratamento com anti-inflamatórios

A neuroinflamação tem sido relacionada com as doenças neurodegenerativas nomeadamente na DA, uma vez que as células presentes no SNC detetam a presença da proteína A β e são ativadas de modo a impedir a deposição destas, gerando uma inflamação (M., J., M., & P., 2013). A inflamação aguda gerada leva à ativação de microglia, de astrócitos reativos e citocinas como uma resposta defensiva para combater a lesão criada, no entanto, se o estímulo for contínuo desenvolve-se uma inflamação crónica. As citocinas pró-inflamatórias e os fatores neurotóxicos podem contribuir para a neurodegeneração, uma vez que, nos pacientes com a DA a expressão da ciclo-oxigenase se encontra aumentada promovendo a sobreexpressão da APP (Scarpini, Schelterns, & Feldman, 2003).

Assim, percebe-se que o uso de anti-inflamatórios não esteroides, nomeadamente ibuprofeno pode ser benéfica na DA, uma vez que irá reduzir as células gliais e a carga amilóide (Klafki et al., 2006). O ibuprofeno é então capaz de reduzir a atividade de γ -secretase reduzindo assim a produção da proteína A β que mais tarde irá formar as placas amilóides (Lleó et al., 2006), apresentado um efeito protetor contra o aparecimento da DA (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2013).

3.5. Tratamento com Estrogénio

O estrogénio apresenta um papel importante na função cognitiva já que os recetores de estrogénio se encontram em todo o cérebro, em especial no hipocampo onde se situa a maioria da inervação colinérgica. O sistema colinérgico tem uma grande importância na DA, uma vez que está relacionado com a memória e a aprendizagem, tal

como o hipocampo que para além disso é responsável pela função cognitiva (Grodstein, Crowley, & Martin, 2018).

Sabe-se que, o estrogénio apresenta diversas funções no SNC sendo elas de extrema importância na DA, visto que têm um papel importante na prevenção da deposição da proteína A β . O estrogénio aumenta a síntese de acetilcolina, aumenta a expressão de proteínas do NMDA que está envolvido na ativação do glutamato, estimula a capacidade dos neurónios aumentando as sinapses, protege as células nervosas de danos causados pelos radicais livres, no entanto, percebe-se que o uso de estrogénio vai aumentar o risco de AVC (Grodstein et al., 2018).

Ao longo da vida sabe-se que as mulheres têm um desempenho melhor em termos de memória que os homens, no entanto com o início da menopausa e a diminuição da concentração sérica de estrogénio está associada uma perda de memória (Silvestrelli et al., 2006).

Apesar do uso de estrogénio na terapêutica farmacológica parecer ser benéfica, o seu uso na terapêutica da DA não é consensual. Alguns estudos demonstram que o tratamento apenas com estrogénio não parece ter nenhum benefício clínico, mas quando combinado com inibidores da colinesterase aumenta o efeito dos inibidores da colinesterase (Grodstein et al., 2018).

4. Trabalho experimental

4.1. Objetivo

O presente estudo teve como principais objetivos:

- Perceber a idade e o género em que a doença de Alzheimer se manifesta com maior frequência;
- Perceber qual a terapêutica atual mais prescrita no controlo da doença de Alzheimer;
- Perceber como a história clínica familiar pode influenciar o aparecimento da doença e assim relacionar-se com a sua predisposição.

4.2. Método

Este trabalho experimental foi realizado em duas Farmácias Comunitárias: Farmácia Central dos Olivais (Lisboa) e Farmácia Abílio Guerra (Cartaxo), através de um questionário realizado aos doentes, familiares ou acompanhantes, os quais aceitaram voluntariamente participar após ter-lhes sido explicado o âmbito deste estudo. O critério de inclusão teve como base a prescrição médica. O questionário está disponível no Capítulo "Apêndice I".

4.3. Tratamento dos dados

Idade

Tabela 3: Distribuição do número de doentes por idade

Intervalo de idades	Número de doentes
70-74	2
75-79	4
80-84	9
85-89	12
90 ou mais	4

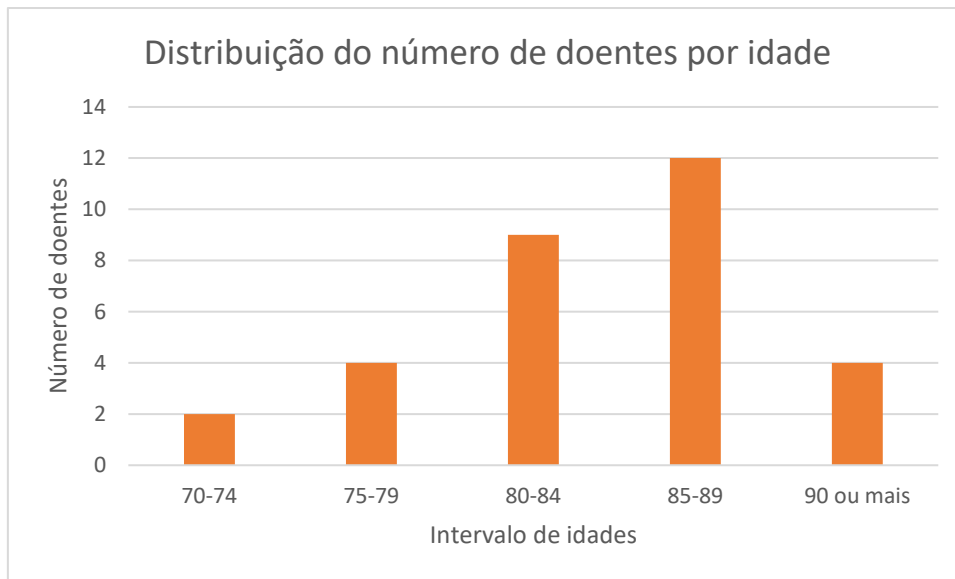


Gráfico 1: Distribuição do número de doentes por idade

Através da análise da Tabela 3 e do Gráfico 1, percebe-se que a idade dos doentes que apresentam DA está compreendida entre os 80-89 anos, sendo esta uma idade bastante avançada, superior à esperança média de vida nacional, 81,4 anos (Organização das Nações, 2018), o que nos leva a crer, pela amostra de dados obtida neste estudo, que a DA não é um fator de risco para a morte precoce.

Género

Tabela 4: Distribuição do número de doentes por género

Género	Número de doentes
Masculino	7
Feminino	24

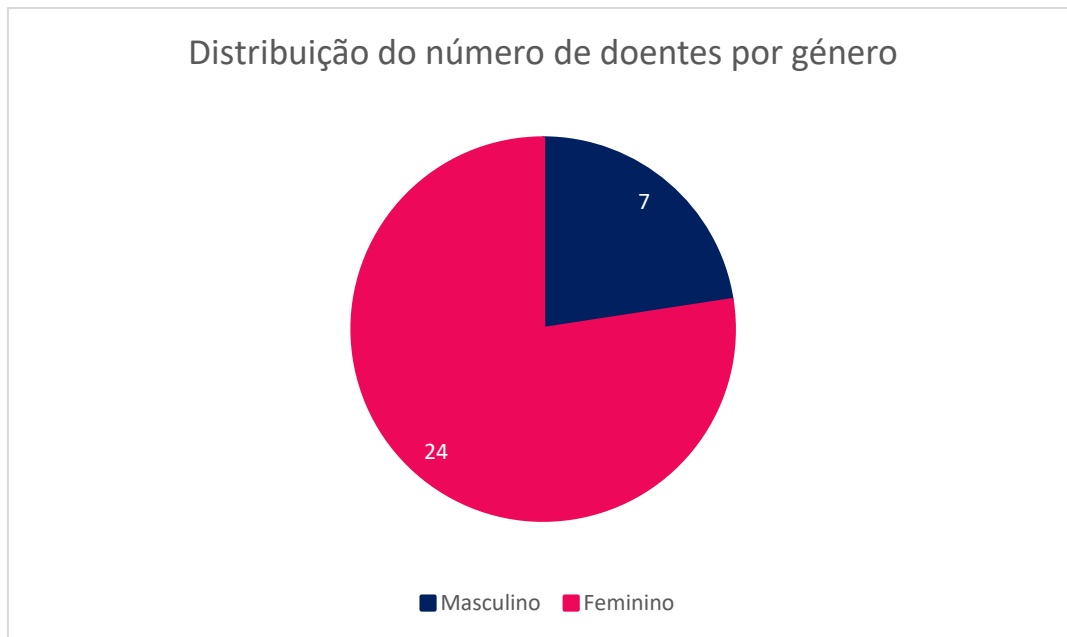


Gráfico 2: Distribuição do número de doentes por género

Pela análise dos dados recolhidos, verifica-se que a doença tem maior prevalência no género feminino (Tabela 4, Gráfico 2). Este resultado vai ao encontro daquilo que foi mencionado anteriormente na presente dissertação. No entanto, na grande maioria dos estudos, a prevalência da DA é igual em ambos os géneros (Keene & Montine, 2018). Esta diferença observada no presente estudo poderá estar relacionada muito provavelmente, com o número reduzido da amostra. Quanto à esperança média de vida, esta é superior no género feminino, o que faz com que a maior percentagem de doentes seja desse género.

Idade de diagnóstico da doença

Tabela 5: Intervalo de idade de diagnóstico da doença de Alzheimer

Intervalo de idades	Número de doentes
65-69	3
70-74	6
75-79	8
80-84	11
85 ou mais	4

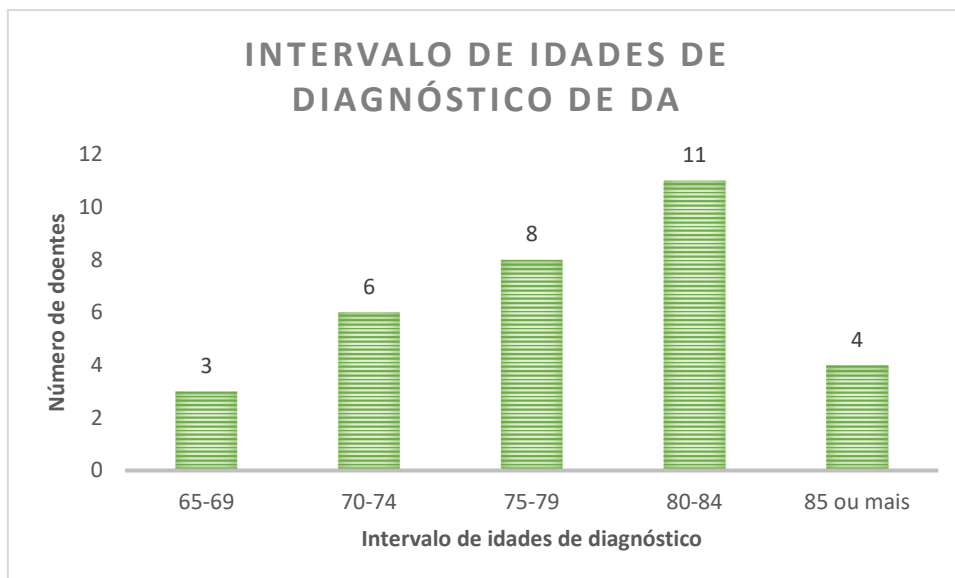


Gráfico 3: Intervalo de idades de diagnóstico da doença de Alzheimer

Quanto à idade de diagnóstico da doença, através da Tabela 5 e do Gráfico 3, percebe-se que a doença é diagnosticada a partir dos 65 anos, verificando-se um aumento da incidência aos 80-84 anos. Uma vez mais, verifica-se o que tinha já sido referido anteriormente na Introdução da presente dissertação: a idade é um dos fatores de risco da DA.

Medicamentos para o controlo da doença

Tabela 6: Fármacos utilizados no controle da doença

Medicamentos	Número de doentes
Donepezilo	3
Galantamina	2
Rivastigmina	3
Memantina	7
Donepezilo e memantina	4
Galantamina e memantina	1
Rivastigmina e memantina	11

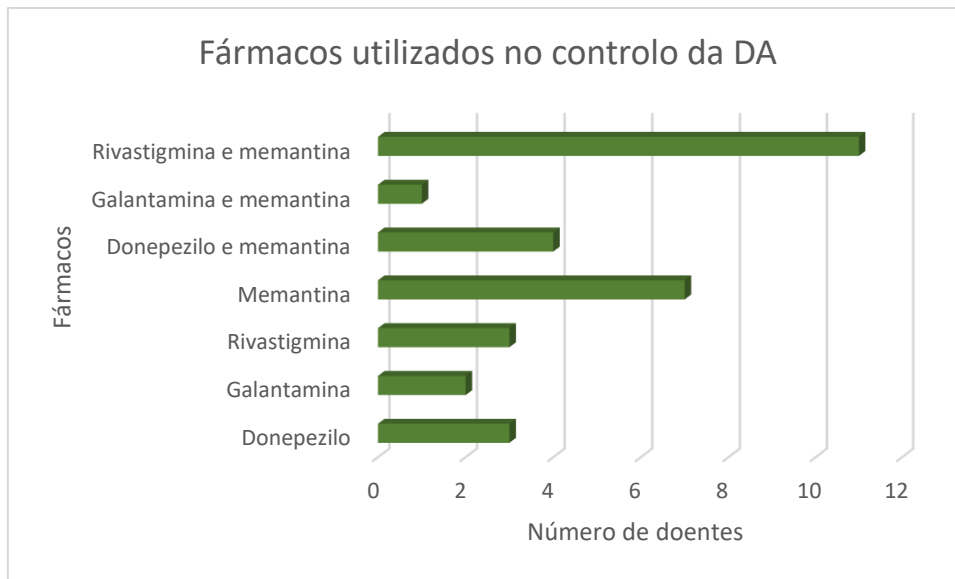


Gráfico 4: Fármacos utilizados no controle da doença

Através da Tabela 6 e do Gráfico 4, observa-se que tanto os inibidores da colinesterase como a memantina são fármacos bastante prescritos na DA, sendo os inibidores da colinesterase usados numa fase mais inicial da doença e a memantina numa fase moderada a grave. Este facto poderá estar relacionado com a sua segurança e tolerabilidade pelos doentes.

Através dos questionários percebe-se que a combinação terapêutica de inibidores da colinesterase com memantina é a prescrição mais frequente, nomeadamente Rivastigmina e memantina. Esta associação terapêutica surge numa fase mais tardia da doença, uma vez que estes não interagem entre si e demonstram ter em conjunto uma melhoria da função cognitiva, sendo, portanto o seu benefício superior ao seu risco.

Familiars com a doença

Tabela 7: Doentes com familiares com doença de Alzheimer

Número de doentes	
Sim	4
Não	27

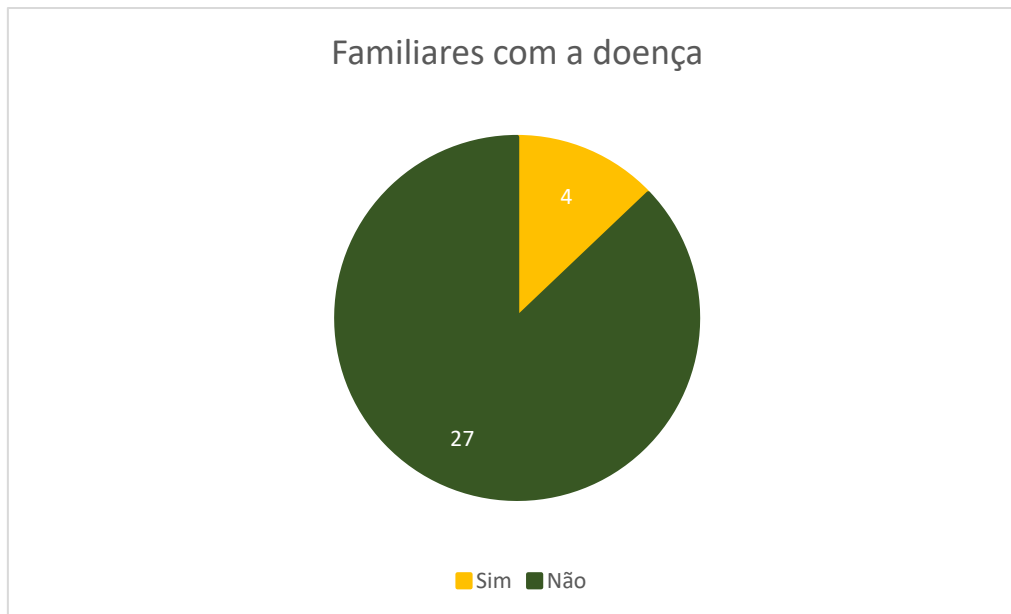


Gráfico 5: Doentes com familiares com doença de Alzheimer

Em relação aos doentes com familiares com DA, percebe-se através da Tabela 7 e do Gráfico 5 que a maioria refere não ter familiares com a doença. Isso pode dever-se ao facto da DA ser uma doença relativamente recente e muitas vezes confundida como o processo normal de envelhecimento, pelo que o seu diagnóstico não estaria (corretamente) estabelecido. Por outro lado, uma vez mais, o número reduzido da amostra de doentes presentes neste estudo pode justificar um certo afastamento dos dados reais (elevado peso da componente genética e respetiva hereditariedade da DA).

Número de familiares com doença de Alzheimer

Tabela 8: Número de doentes com familiares com a doença de Alzheimer

Número de familiares com alzheimer	Número de doentes
1 familiar	3
3 familiares	1

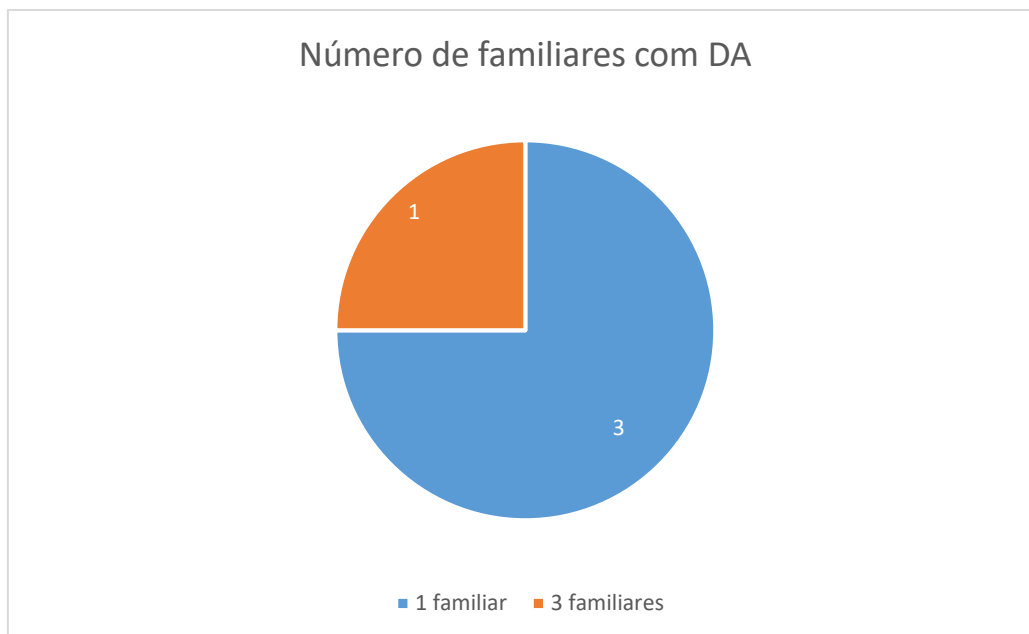


Gráfico 6: Número de familiares com doença de Alzheimer

Quanto ao número de familiares com a DA, através da Tabela 8 e do Gráfico 6 percebe-se que, a maioria das pessoas apresenta um familiar com a doença. É importante ter em consideração o facto de a esperança média de vida ser mais baixa nas gerações anteriores, o facto de nem toda a população ter conhecimento sobre a doença e muitas vezes esta ser confundida com o processo normal de envelhecimento. Para além disso, os familiares podem também ter morrido por outras causas, apesar de terem a doença.

Grau de parentesco

Tabela 9: Grau de parentesco dos familiares com doença de Alzheimer

Grau de parentesco	Número de doentes
Mãe	3
Mãe e irmãos	1

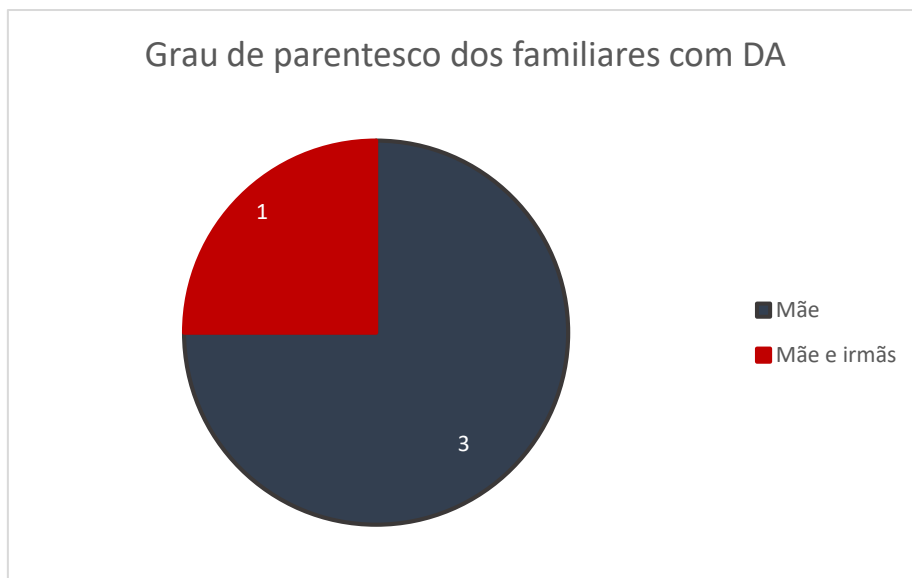


Gráfico 7: Grau de parentesco dos familiares dos doentes com doença de Alzheimer

Quanto ao grau de parentesco dos familiares dos doentes com DA, percebe-se através da tabela 9 e do gráfico 7, que todos eles são familiares diretos, sendo o mais comum a mãe, mas também se registaram irmãs, o que, apesar do número reduzido de doentes, permite demonstrar uma predisposição genética para a doença.

4.4. Discussão

Através do estudo realizado, percebeu-se que a maior parte dos doentes medicados têm uma idade compreendida entre os 80-89 anos de idade, indicando que a doença não leva a uma morte precoce. Embora a idade de diagnóstico seja a partir dos 65 anos, apresenta uma incidência superior entre os 80-84 anos, assim, conclui-se que o número de casos aumenta com a idade.

Para além da idade, também o género parece estar implicado na manifestação da doença, afetando maioritariamente mulheres, podendo tratar-se, no entanto de um viés, uma vez que temos que considerar o facto de as mulheres apresentarem uma esperança média de vida superior.

Quanto aos fármacos mais utilizados, são tanto inibidores da colinesterase como a memantina. Os inibidores da colinesterase são utilizados numa fase mais inicial da doença, enquanto a memantina é utilizada numa fase moderada a grave da doença. Verificou-se que é mais frequente a combinação terapêutica de inibidores da colinesterase

com a memantina, possivelmente porque estes não interagem entre si, possuindo mecanismos de ação específicos e complementares, o que se torna uma mais-valia na terapêutica da DA, visto que por vezes em monoterapia não são eficazes.

Relativamente à genética da doença, quando foi perguntado se os doentes teriam familiares com DA, a maioria das respostas foi negativa o que poderá ser atribuído ao facto de o conhecimento da doença ser relativamente recente, bem como por alguma dificuldade em detetar a doença. Este facto é ainda mais importante numa fase precoce da doença, em que são muito poucos os biomarcadores disponíveis.

Percebe-se que a doença é muitas vezes confundida como o processo normal de envelhecimento, o que poderá justificar algumas das respostas negativas, além disso também pode ser atribuído à esperança média de vida ser mais baixa nos familiares, ou estes terem morrido de outras causas.

Quanto às respostas positivas, em relação aos familiares dos doentes com DA, conclui-se que todos os familiares são familiares diretos sendo eles a mãe, mas também se registam irmãos, o que sugere que a doença tenha uma predisposição hereditária.

É importante referir que este estudo não pode ser representativo da população em geral, uma vez que inclui apenas um pequeno número de participantes, os quais são todos residentes numa região geográfica restrita.

Conclusão

Sendo a DA, a quinta principal causa de morte a nível Mundial, torna-se urgente a procura de novos métodos de diagnóstico precoce, de modo a esta não ser confundida com o processo natural de envelhecimento.

Devido ao aumento da esperança média de vida, esta demência torna-se uma demência emergente e um risco de saúde pública, uma vez que, a prevalência do aparecimento da doença aumenta a partir dos 60 anos de idade. Os valores de prevalência desta doença em Portugal tornam-se preocupantes, dado que ultrapassam os valores médios da Europa.

Quanto aos mecanismos fisiopatológicos decorrentes do aparecimento da doença, sabe-se que estes ocorrem cerca de 16 anos antes do início dos sintomas. Várias hipóteses são apontadas para o seu aparecimento, embora as mais aceites sejam a hipótese da cascata amilóide e a hipótese da hiperfosforilação da proteína τ , uma vez que daí resultam os dois marcadores usados no seu diagnóstico. No entanto, é a hipótese da cascata amilóide que, até aos dias de hoje, continua a reunir maior consenso.

Atualmente, na terapêutica da DA são usados inibidores da colinesterase, numa fase mais inicial da doença, e a memantina, numa fase moderada a grave. No entanto, esta terapêutica disponível não consegue reparar os danos já causados pela doença, sendo que, apenas consegue atuar a nível da sintomatologia e atrasar a progressão da doença. Assim, torna-se essencial a pesquisa de novas terapêuticas, bem como de novos alvos terapêuticos, de modo a ser possível interferir na fisiopatologia da doença precocemente, de forma a impedir a progressão desta demência.

As novas abordagens terapêuticas têm como principais alvos a proteína $A\beta$ e a proteína τ , pois a deposição de proteína $A\beta$ leva a uma maior perda neuronal devido aos agregados formados que têm efeito tóxico sobre as células, já, a hiperfosforilação da proteína τ vai interferir com o transporte axonal e depositar-se em emaranhados fibrilares perturbando desta forma os mecanismos celulares normais levando à acumulação de produtos tóxicos que mais tarde levam à perda neuronal.

A terapêutica antioxidante, também parece desempenhar um papel essencial em combinação com a terapêutica já utilizada, pois sabe-se que o *stress* oxidativo origina desequilíbrios entre oxidantes e antioxidantes resultando em alterações nas células,

tecidos e órgãos. Serão necessários, no entanto, muito mais estudos para demonstrar o benefício clínico da toma de antioxidantes.

Além do aumento da esperança média de vida, a história familiar torna-se um fator de risco no aparecimento da doença, pois ao longo do tempo percebeu-se que o risco aumentava quando existiam familiares, sobretudo os diretos, com esta demência.

Desta forma, foi essencial o conhecimento sobre os mecanismos fisiopatológicos da doença, pois só assim se conseguiu perceber quais as mutações, em diversos genes, que se relacionavam com o aparecimento da doença.

Nas últimas décadas o conhecimento genético da doença, originou um melhoramento considerável na compreensão dos genes envolvidos no aparecimento desta, passando-se de três genes conhecidos para mais de vinte *loci*. Assim, considera-se que no futuro o combate à doença assente numa abordagem genética, recorrendo-se à terapia génica.

Relativamente ao trabalho experimental realizado, verificou-se que: I) O diagnóstico da doença se inicia por volta dos 65 anos, embora a maior incidência se verifique entre os 80-84 anos, pelo que se conclui que a idade é um fator de risco no aparecimento da doença; II) A doença apresenta uma prevalência superior no género feminino, facto que se deve, pelo menos em parte à esperança média de vida ser superior nas mulheres; III) A terapêutica atualmente mais utilizada no controlo da doença é a combinação de inibidores da colinesterase com a memantina, isto pode indicar que o estadio da doença é um estadio mais avançado; IV) Quanto à genética da DA, verifica-se uma predominância na resposta negativa em relação aos familiares com DA. Isto pode estar relacionado com a esperança média de vida ser mais baixa nas gerações anteriores e por isso morreriam mais cedo ainda sem a doença, bem como, os conhecimentos sobre a DA serem reduzidos em comparação com os conhecimentos atuais; V) Por último, como o número total de participantes foi de apenas 31, o seu número reduzido impossibilita tirar conclusões mais precisas e exatas, sendo importante ter este aspeto em conta em estudos futuros.

Conclui-se, na generalidade, que o conhecimento desta doença é muito recente, e que embora já tenham sido realizados, muitos e importantes avanços, é uma doença atual mas que ainda se encontra numa fase embrionária, precisando-se ainda de muita

investigação de modo a serem descobertas e implementadas novas medidas preventivas, de diagnóstico e terapêuticas.

Bibliografia

Abushouk, A. I., Elmaraezy, A., Aglan, A., Salama, R., Fouda, S., Fouda, R., & AlSafadi, A. M. (2017). Bapineuzumab for mild to moderate Alzheimer's disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Neurology*, 17(1), 1–13.

Apostolova, L., Dekosky, S., Cummings, J. (2012). In Daroff, R. *Bradley's Neurology in Clinical Practice*. (6th ed., pp-1534-1549) Elsevier.

Bakota, L., & Brandt, R. (2016). Tau Biology and Tau-Directed Therapies for Alzheimer's Disease. *Drugs*, 76(3), 301–313.

Brosch, J. R., Farlow, M. R., Editor, S., Dekosky, S. T., Editor, D., & Wilterdink, J. L. (2018). Early-onset dementia in adults, 1–30.

Brouwers, N., Sleegers, K., & Van Broeckhoven, C. (2008). Molecular genetics of Alzheimer's disease: An update. *Annals of Medicine*, 40(8), 562–583.

California Department of Public Health. (2008). Guideline for Alzheimer ' s Disease Management Guideline for Alzheimer ' s Disease Management California Workgroup on Guidelines for Alzheimer ' s Disease Management. *California Workgroup on Guidelines for Alzheimer's Disease Management*, (April), 1–122.

Carmona, S., Hardy, J., & Guerreiro, R. (2018). *The genetic landscape of Alzheimer disease. Handbook of Clinical Neurology* (1.^a ed., Vol. 148). Elsevier B.V.

Castellani, R. J., Zhu, X., Lee, H. G., Smith, M. A., & Perry, G. (2009). Molecular pathogenesis of alzheimer's disease: Reductionist versus expansionist approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(3), 1386–1406.

Chang, K. H., Cheng, M. L., Chiang, M. C., & Chen, C. M. (2018). Lipophilic antioxidants in neurodegenerative diseases. *Clinica Chimica Acta*, 485(June), 79–87.

Chong, F. P., Ng, K. Y., Koh, R. Y., & Chye, S. M. (2018). Tau Proteins and Tauopathies in Alzheimer's Disease. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 38(5), 965–980.

Clark, L. N. (2018). Genetics of Alzheimer Disease Genetics of Alzheimer Disease. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 1–14.

Company, E. L. and. (2018). A Study of Solanezumab (LY2062430) in Participants With Prodromal Alzheimer's Disease.

- Congdon, E. E., & Sigurdsson, E. M. (2018). Tau-targeting therapies for Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*, 14(7), 399–415.
- Correia, A., Filipe, J., Santos, A., & Graça, P. (2015). *Nutrição E Doença De Alzheimer*.
- Cruz, V. T., Pais, J., Teixeira, A., & Nunes, B. (2004). Sintomas iniciais de demência de Alzheimer: A percepção dos familiares. *Acta Medica Portuguesa*, 17(6), 435–444.
- Duthey, B. B., & Ph, D. (2013). Priority Medicines for Europe and the World " A Public Health Approach to Innovation " Update on 2004 Background Paper Written by Saloni Tanna Background Paper 6 . 11 Alzheimer Disease and other Dementias, (February).
- EMA. (2018). Draft guideline on the clinical investigation of medicines for the treatment of Alzheimer ' s disease and other dementias, 44(February).
- Evans, M. C., Barnes, J., Nielsen, C., Kim, L. G., Clegg, S. L., Blair, M., ... Fox, N. C. (2010). Volume changes in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: Cognitive associations. *European Radiology*, 20(3), 674–682.
- Fernandes, A. S., Castro, M., & Oliveira, N. G. (2011). Oxidative stress and antioxidant defences – a pedagogical review Stress oxidativo e defesas antioxidantes – uma revisão pedagógica, (8), 97–108.
- Fettelschoss, A., Zabel, F., & Bachmann, M. F. (2014). Vaccination against Alzheimer disease: An update on future strategies. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 10(4), 1–5.
- Gomez-Isla, T., Spires, T., De Calignon, A., & Hyman, B. T. (2008). Neuropathology of Alzheimer's Disease. *Handbook of Clinical Neurology*, 89, 233–243.
- Götz, J., Ittner, A., & Ittner, L. M. (2012). Tau-targeted treatment strategies in Alzheimer's disease. *British Journal of Pharmacology*, 165(5), 1246–1259.
- Grodstein, F., Crowley, W. F., & Martin, K. A. (2018). Estrogen and cognitive function, 1–14.
- Grossberg, G. T. (2003). Cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: Getting on and staying on. *Current Therapeutic Research - Clinical and Experimental*, 64(4), 216–235.
- Hippius, H., & Neundörfer, G. (2003). The discovery of Alzheimer's disease. *Dialogues*

in *Clinical Neuroscience*, 5(1), 101–108.

Infarmed. (2011). Despacho n.º 13020/2011, de 20 de Setembro. *Legislação Farmacêutica Compilada*, 2010–2011.

INFARMED. (2011). *Prontuário Terapêutico*.

Institute, B. A., (NIA), N. I. on A., Association, A., & Amgen. (2018). A Study of CAD106 and CNP520 Versus Placebo in Participants at Risk for the Onset of Clinical Symptoms of Alzheimer's Disease.

Iqbal, K., & Grundke-Iqbal, I. (2007). Developing pharmacological therapies for Alzheimer disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(17), 2234–2244.

Keene, C. D., & Montine, T. J. (2018). Epidemiology, pathology, and pathogenesis of Alzheimer disease. *Up to date*, (image 1), 1–18.

Klafki, H.-W., Staufenbiel, M., Kornhuber, J., & Wiltfang, J. (2006). Therapeutic approaches to Alzheimer's disease. *Brain*, 129(11), 2840–2855.

Lancôt, K. L., Amatniek, J., Ancoli-Israel, S., Arnold, S. E., Ballard, C., Cohen-Mansfield, J., ... Boot, B. (2017). Neuropsychiatric signs and symptoms of Alzheimer's disease: New treatment paradigms. *Alzheimer's and Dementia: Translational Research and Clinical Interventions*, 3(3), 440–449.

Le Guennec, K., Tubeuf, H., Hannequin, D., Wallon, D., Quenez, O., Rousseau, S., ... Nicolas, G. (2018). Biallelic Loss of Function of SORL1 in an Early Onset Alzheimer's Disease Patient. *Journal of Alzheimer's Disease*, 62(2), 821–831.

Lleó, A., Greenberg, S. M., & Growdon, J. H. (2006). Current Pharmacotherapy for Alzheimer's Disease. *Annual Review of Medicine*, 57(1), 513–533.

M., M., J., T., M., Z., & P., A. (2013). Amyloid-beta drives a type-1 interferon mediated neuro-inflammatory response in Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 8(Suppl 1), S23.

Martinez, A., & Castro, A. (2006). Novel cholinesterase inhibitors as future effective drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert opinion on investigational drugs*, 15(1), 1–12.

Massoud, F., & Gauthier, S. (2010). An update on the pharmacological treatment of

Alzheimer disease. *Current Neuropharmacology*, 8, 69–80.

Mathuranath, P. S., Nestor, P. J., Berrios, G. E., Rakowicz, W., & Hodges, J. R. (2000). A brief cognitive test battery to differentiate Alzheimer ' s disease and frontotemporal dementia, 315–320.

Matsunaga, S., Kishi, T., Nomura, I., Sakuma, K., Okuya, M., Ikuta, T., & Iwata, N. (2018). The efficacy and safety of memantine for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Drug Safety*, 17(10), 1053–1061.

Organização das Nações. (2018). Índice de desenvolvimento Humano. Obtido de <https://www.sns.gov.pt/noticias/2018/09/15/indice-de-desenvolvimento-humano/>

Padilla, C, Issacson, R. (2011). Genetics of dementia, 122(April), 58–61.

Pedersen, J. T., & Sigurdsson, E. M. (2015). Tau immunotherapy for Alzheimer's disease. *Trends in Molecular Medicine*, 21(6), 394–402.

Perl, D. P. (2010). Neuropathology of Alzheimer ' s Disease. *Mt Sinai J Med*, 77(1), 32–42.

Pfizer. (2016). Study Evaluating the Safety and Efficacy of Bapineuzumab in Alzheimer Disease Patients. Obtido de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00676143>

Ray, A., Ahalawat, N., & Mondal, J. (2017). Atomistic Insights into Structural Differences between E3 and E4 Isoforms of Apolipoprotein E. *Biophysical Journal*, 113(12), 2682–2694.

Reitz, C., Brayne, C., & Mayeux, R. (2011). Epidemiology of Alzheimer disease. *Nature Publishing Group*, 7(3), 137–152.

Richard E. Kennedy, Gary R. Cutter, L. S. S. (2014). Effect of APOE Genotype Status on Targeted Clinical Trials Outcomes and Efficiency in Dementia and MCI due to AD. *Nano*, 6(9), 2166–2171.

Ringman, J. M., Goate, A., Masters, C. L., Cairns, N. J., Danek, A., Graff-Radford, N., ... Morris, J. C. (2014). Genetic Heterogeneity in Alzheimer Disease and Implications for Treatment Strategies. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 14(11).

Roher, A. E., Maarouf, C. L., & Kokjohn, T. A. (2016). Familial Presenilin Mutations and Sporadic Alzheimer's Disease Pathology: Is the Assumption of Biochemical

Equivalence Justified *Journal of Alzheimer's Disease*, 50(3), 645–658.

Rossor, M., Collinge, J., Fox, N., Mead, S., Mummery, C., Roherer, J., Schott, J. & Warren, J. (2016). Dementia and Cognitive Impairment. In Clarke, C., *Neurology A Queens Square Textbook* (2nd ed., pp-304-310). Wiley Blackwell.

Rotermund, C., Machetanz, G., & Fitzgerald, J. C. (2018). The therapeutic potential of metformin in neurodegenerative diseases. *Frontiers in Endocrinology*, 9(Jul).

Salomone, S., Caraci, F., Leggio, G. M., Fedotova, J., & Drago, F. (2012). New pharmacological strategies for treatment of Alzheimer's disease: Focus on disease modifying drugs. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 73(4), 504–517.

Sanabria-Castro, A., Alvarado-Echeverría, I., & Monge-Bonilla, C. (2017). Molecular pathogenesis of alzheimer's disease: An update. *Annals of Neurosciences*, 24(1), 46–54.

Sapkota, S., & Dixon, R. A. (2018). A Network of Genetic Effects on Non-Demented Cognitive Aging: Alzheimer's Genetic Risk (CLU + CR1 + PICALM) Intensifies Cognitive Aging Genetic Risk (COMT + BDNF) Selectively for APOE ε 4 Carriers. *Journal of Alzheimer's Disease*, 62(2), 887–900.

Scarpini, E., Schelterns, P., & Feldman, H. (2003). Treatment of Alzheimer's disease: current status and new perspectives. *Lancet Neurol*, 2(9), 539–547.

Schneider, L. S. (2013). Alzheimer disease pharmacologic treatment and treatment research. *CONTINUUM Lifelong Learning in Neurology*, 19(2), 339–357.

Seeley, R., Stephens, T., Tate, P. (2003). *Anatomia & Fisiologia* (6^aed., pp-374-381). Lusociência.

Selkoe, D. J. (2018). Alzheimer ' s Disease : Genes , Proteins , and Therapy, 81(2), 741–766.

Serrano-Pozo, A., Frosch, M. P., Masliah, E., & Hyman, B. T. (2011). Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 1(1), 1–23.

Silvestrelli, G., Lanari, A., Parnetti, L., Tomassoni, D., & Amenta, F. (2006). Treatment of Alzheimer's disease: From pharmacology to a better understanding of disease pathophysiology. *Mechanisms of Ageing and Development*, 127(2), 148–157.

- Small, G., & Bullock, R. (2011). Defining optimal treatment with cholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia*, 7(2), 177–184.
- Sperling, R. A., Aisen, P. S., Beckett, L. A., Bennett, D. A., Craft, S., Fagan, A. M., ... Phelps, C. H. (2011). Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia*, 7(3), 280–292.
- State, C., & Trends, F. (2010). The Epidemiology and Impact of dementia current state of dementia, 3–6.
- Summavielle, T. & Relvas, J. (2012). Células do Sistema Nervoso. In Azevedo, C., *Biologia Celular e Molecular* (5^a ed., pp-455-467). Lidel.
- Sutovsky, S., Smolek, T., Turcani, P., Petrovic, R., Brandoburova, P., Jadhav, S., Zilka, N. (2018). Neuropathology and biochemistry of early onset familial Alzheimer's disease caused by presenilin-1 missense mutation Thr116Asn. *Journal of Neural Transmission*, 125(6), 965–976.
- Swerdlow, R. H. (2007). Pathogenesis of Alzheimer's disease. *Clinical interventions in aging*, 2(3), 347–359.
- Tariot, P. N., Farlow, M. R., Grossberg, G. T., Graham, S. M., McDonald, S., & Gergel, I. (2004). Memantine Treatment in Patients With Moderate to Severe Alzheimer Disease. *Jama*, 291(3), 317–324.
- Van Cauwenberghe, C., Van Broeckhoven, C., & Sleegers, K. (2016). The genetic landscape of Alzheimer disease: Clinical implications and perspectives. *Genetics in Medicine*, 18(5), 421–430.
- Vandenberghe, R., Riviere, M. E., Caputo, A., Sovago, J., Maguire, R. P., Farlow, M., Graf, A. (2017). Active A β immunotherapy CAD106 in Alzheimer's disease: A phase 2b study. *Alzheimer's and Dementia: Translational Research and Clinical Interventions*, 3(1), 10–22.
- Vander, A., Sherman, J, Luciano, D. (1994). *Human Physiology* (6^a ed., pp-214-232). International Edition.
- Verhoeff, N. P. L. G. (2005). Acetylcholinergic neurotransmission and the beta-amyloid

cascade: implications for Alzheimer's disease. *Expert review of neurotherapeutics*, 5(2), 277–284.

Veugelen, S., Saito, T., Saido, T. C., Chávez-Gutiérrez, L., & De Strooper, B. (2016). Familial Alzheimer's Disease Mutations in Presenilin Generate Amyloidogenic A β Peptide Seeds. *Neuron*, 90(2), 410–416.

Wake, R., Araki, T., Miyaoka, T., Nagahama, M., Furuya, M., Hayashida, M., & Wake, R. (2018). Long-Term Effects Of Combined Treatment With Memantine And Donepezil On Alzheimer ' s Disease Patients : 72-Week Study, 8, 951–960.

Wang, Z., Lei, H., Zheng, M., Li, Y., Cui, Y., & Hao, F. (2016). Meta-analysis of the Association between Alzheimer Disease and Variants in GAB2, PICALM, and SORL1. *Molecular Neurobiology*, 53(9), 6501–6510.

Weiner, M. W., Veitch, D. P., Aisen, P. S., Beckett, L. A., Cairns, N. J., Green, R. C., Trojanowski, J. Q. (2012). The Alzheimer's disease neuroimaging initiative: A review of papers published since its inception. *Alzheimer's and Dementia*, 8(1 SUPPL.), S1–S68.

Wenk, G. L., Quack, G., Moebius, H. J., & Danysz, W. (2000). No interaction of memantine with acetylcholinesterase inhibitors approved for clinical use. *Life Sciences*, 66(12), 1079–1083.

World Health Organization. (2012). Dementia: a public health priority. *Dementia*, 112.

Yang, H. D., Kim, D. H., Lee, S. B., & Young, L. D. (2016). History of Alzheimer's Disease. *Dementia and Neurocognitive Disorders*, 15(4), 115.

Yiannopoulou, K. G., & Papageorgiou, S. G. (2013). Current and future treatments for Alzheimer's disease. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, 6(1), 19–33.

Yu, J.-T., Tan, L., & Hardy, J. (2014). Apolipoprotein E in Alzheimer's Disease: An Update. *Annual Review of Neuroscience*, 37(1), 79–100.

Zádori, D., Veres, G., Szalárdy, L., Klivényi, P., & Vécsei, L. (2018). Alzheimer's Disease: Recent Concepts on the Relation of Mitochondrial Disturbances, Excitotoxicity, Neuroinflammation, and Kynurenines. *Journal of Alzheimer's Disease*, 62(2), 523–547.

Zou, Z., Liu, C., Che, C., & Huang, H. (2014). Clinical genetics of Alzheimer's disease. *BioMed Research International*, 2014.

Apêndices

Apêndice I

Questionário sobre a Doença de Alzheimer

Objetivo

O presente questionário, enquadra-se no trabalho experimental da Dissertação de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o título “Alzheimer: Fisiopatologia e Genética”, realizada na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias de Lisboa pela aluna Maria Beatriz Rodrigues.

Os resultados obtidos neste questionário são de carácter anónimo sendo apenas utilizados para fins académicos, podendo este ser também preenchido por um familiar, assim agradeço a vossa colaboração no preenchimento do mesmo.

Autorizo que os meus dados/dados do meu familiar sejam recolhidos de forma anónima e utilizados para este fim.

Sim ☐ Não ☐

Obrigada pela sua colaboração.

☐ Familiar ☐ Doente

1. Idade do doente: _____

2. Sexo do doente: ☐ Masculino ☐ Feminino

3. Com que idade lhe foi diagnosticada a D. de Alzheimer? _____

4. Quais os medicamentos que toma habitualmente para o controlo da doença?

5. Tem mais familiares com D. de Alzheimer? ☐ Sim ☐ Não

6. Se sim, quais e quantos? _____