



Tânia Sofia Almeida Pinho

Alzheimer e Vacinas Terapêuticas

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Maria Teresa Teixeira Cruz Rosete e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Tânia Sofia Almeida Pinho

Alzheimer e Vacinas Terapêuticas

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,
orientada pela Professora Doutora Maria Teresa Teixeira Cruz Rosete e apresentada à Faculdade de Farmácia da
Universidade de Coimbra

Julho 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Tânia Sofia Almeida Pinho, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2011169619, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 28 de Junho de 2016.

(Tânia Sofia Almeida Pinho)

Agradecimentos

Quero agradecer

Aos meus pais, irmão, restante família e namorado por me apoiarem ao longo desta caminhada.

À minha Madrinha, por toda a ajuda durante todo o meu percurso académico.

Às minhas amigas, Inês, Catarina, Ângela e Raquel por terem estado sempre lá.

À minha orientadora, Professora Doutora Maria Teresa Rosete, por toda a ajuda e prontidão de resposta.

A todos os professores da Faculdade de Farmácia por todo o conhecimento transmitido.

Para ti, Avó!

I. Resumo

A doença de Alzheimer (AD) é uma doença progressiva, multifatorial e complexa, em que a fisiopatologia antecede cerca de 10 a 20 anos o aparecimento de sintomas clínicos.

Ao longo dos anos, a patogénese da AD tem sido associada com a acumulação, deposição e agregação do péptido β -amilóide ($A\beta$) no cérebro e com a formação de emaranhados neurofibrilares (NFT) que consistem na deposição de tau hiperfosforilada sob a forma de filamentos helicoidais. Como nenhum dos postulados já conhecidos, *per si*, é suficiente para justificar o aparecimento da doença, surgem já outras hipóteses tais como a teoria neuroquímica e a da inflamação crónica para tentar justificar a fisiopatologia desta doença multifatorial.

Um dos grandes desafios da comunidade científica é encontrar um tratamento ou uma cura para a AD, já que atualmente as estratégias terapêuticas disponíveis permitem apenas controlar os sintomas e retardar a progressão da doença. Neste sentido, e com o avanço do conhecimento dos mecanismos celulares e moleculares subjacentes a esta patologia, têm sido identificadas novas formas de tratamento como por exemplo a imunização ativa, através de vacinação. Desde o ano de 2000, muitos ensaios clínicos começaram, falharam e continuaram a ser seguidos no sentido de se aferir uma resposta terapêutica benéfica.

Nesta monografia pretende-se rever a epidemiologia, a fisiopatologia da AD, o tratamento atualmente disponível e ainda aquela que poderá vir a ser uma alternativa no futuro – a vacinação terapêutica.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer, β -amilóide, proteína tau, vacinas terapêuticas

2. Abstract

Alzheimer's Disease (AD) is a progressive, multifactorial and complex disease in which the physiopathology may precede 10 to 20 years the appearance of clinical symptoms.

Over the years, the pathogenesis of AD has been associated with accumulation, aggregation and deposition of amyloid beta peptides ($A\beta$) in the brain concomitantly with the development of neurofibrillary tangles that consist in deposition of hyperphosphorylated tau protein under the form of helical filaments. As none of the postulates already known, per se, can justify the AD appearance, another hypothesis emerges, as like as neurochemical and chronic inflammation theories trying to give an answer to this multifactorial disease.

One of the biggest challenges of the scientific society is to find a treatment or a cure for AD because actually the available treatments can only control the symptoms and slow up the progression of Alzheimer's Disease.

As new insights into disease are discovered emerge the necessity of finding new drugs and new ways of treatment such as active immunization through vaccination. Since 2000, many clinical trials have started, have failed and are continued to be pursued to find therapeutic benefits.

In these monography it will be reviewed the epidemiology, the physiopathology and the treatments actually available, as well as the possible alternative to the future – therapeutic vaccines.

Keywords: Alzheimer Disease, amyloid- β , tau-protein, therapeutic vaccines

Índice

1. Resumo	1
2. Abstract	2
3. Índice de figuras	4
4. Índice de gráficos	5
5. Índice de tabelas	5
6. Índice de esquemas	5
7. Abreviaturas	6
8. Introdução.....	7
9. Epidemiologia.....	8
10. Características Principais da Doença	9
11. Fatores de Risco	11
11.1 Doença Cerebrovascular	11
11.2 Hipertensão	11
11.3 Diabetes.....	12
11.4 Tabagismo	13
12. Fatores protetores	13
12.1 Dieta e nutrição	13
12.2 Atividade física.....	14
12.3 Atividade intelectual.....	14
13. Fisiopatologia da doença de Alzheimer	14
13.1 Cascata da β -amilóide.....	15
13.2 Proteína tau.....	18
13.3 Teoria neuroquímica.....	18
13.4 Inflamação crónica.....	19
14. Terapêutica atualmente preconizada	20
14.1 Inibidores da acetilcolinesterase	20
14.2 Antagonista não competitivo dos recetores NMDA	22
15. Alternativas farmacêuticas e perspectivas futuras.....	23
15.1 Vacinas tendo como antigénio A β	24
15.1.1 AN1792.....	25
15.1.2 CADI06	26

15.2 Vacinas de DNA	27
15.3 Vacinas tendo como antígeno a proteína tau.....	28
16. Conclusão.....	31
17. Bibliografia.....	32

3. Índice de figuras

Figura 1 – Epidemiologia da Doença de Alzheimer (Prince <i>et al.</i> , 2015).....	8
Figura 2 – Nutrição e Alzheimer (Hu <i>et al.</i> , 2013).....	14
Figura 3 – Diagrama exemplificativo do processamento do APP (Kumar, Singh e Ekavali, 2015).....	15
Figura 4 – Diagrama exemplificativo da cascata amiloide (Morrison e Lyketsos, 2005)....	17
Figura 5 – O papel da tau nos microtúbulos (Morrison e Lyketsos, 2005).....	18
Figura 6 – Esquema representativo dos alvos terapêuticos disponíveis na AD (Adaptado de Hughes, Nikolic e Ramsay, 2016).....	23
Figura 7 – Mecanismo da remoção da A β via anticorpos específicos (Alves <i>et al.</i> , 2014).....	24
Figura 8 – Utilização de epítomos de células T sem reação auto-imune (Marciani, Dante 2016).....	26
Figura 9 – Resultados de imunohistoquímica do cérebro de rato tratado com vacina de DNA (Lambracht-Washington e Rosenberg, 2013).....	27
Figura 10 – Tau hiperfosforilada em ratos tratados só com adjuvante vs ratos tratados com AADvac I. (Kontsekova <i>et al.</i> , 2014).....	29
Figura 11 – AADvac I reduz a formação de emaranhados neurofibrilares (NFT) (Kontsekova <i>et al.</i> , 2014).....	30

4. Índice de gráficos

Gráfico 1 – Distribuição mundial de novos casos de AD em 2015(Prince <i>et al.</i> , 2015)..	9
--	---

5. Índice de tabelas

Tabela 1 – Sintomas das diferentes fases da AD (World Health Organization, 2012)...	10
---	----

Tabela 2 – Tabela resumo com a classificação e formas farmacêuticos dos I-ACh (Forlenza, 2005).....	21
---	----

6. Índice de esquemas

Esquema 1 – Efeito dos fármacos Enalapril e Hidroclorotiazida na diminuição do risco de desenvolver AD (Forette, 202AD) ¹⁰	12
Esquema 2 – Efeito dos fármacos Perindopril e Indapamida na redução do risco de desenvolver AD em caso de AVC/AIT prévio – (Tzourio,2003) ¹¹	12
Esquema 3 – Esquema representativo das 4 hipóteses mais plausíveis para o desenvolvimento de AD.....	15

7. Abreviaturas

- AD – Doença de Alzheimer
A β – Péptido β -amilóide
BHE – Barreira Hematoencefálica
AVC – Acidente Vascular Cerebral
AIT – Acidente Isquémico Transitório
ROS – Espécies Reativas de Oxigénio
APP – Proteína Percursora do Péptido Amilóide
PS1 – gene codificador da presenilina 1
PS2 – gene codificador da presenilina 2
ApoE – Apo Lipoproteína E
NFT – Emaranhados Neurofibrilares
ACh – Acetilcolina
AChE – Acetilcolinesterase
I-AChE – Inibidores da Acetilcolinesterase
BuChE – Inibidores da Butirilacetilcolinesterase
NMDA – Recetor N-metil-D-aspartato
COX-1 – Cicloxigenase 1
COX-2 – Cicloxigenase 2
AINE's – Anti-Inflamatórios não Esteróides
IgG – Imunoglobulina G
Th1 – Células T *helper* 1
Th2 – Células T *helper* 2

8. Introdução

A doença de Alzheimer (AD) é a forma mais comum de doença neurodegenerativa representando cerca de 60 % a 70 % das doenças neurodegenerativas a nível mundial. A sintomatologia correlaciona-se com a perda progressiva de memória e de funções cognitivas,¹ tais como a capacidade de falar, de orientação espacial e de comportamento.²

Esta doença foi descrita inicialmente, no Encontro de Psiquiatras do Sudeste Alemão, por um psiquiatra de seu nome Alois Alzheimer em 1907, depois de, em 1906, ter estudado uma doente com cinquenta e um anos que apresentava sinais de demência, apresentando mudanças de personalidade e comportamento (agressividade, confusão, paranoia e distúrbios do sono) e progressivamente com perdas de memória.³ Após falecimento da doente, Alois analisou a biópsia do tecido cerebral, descrevendo atrofia cerebral, depósitos de estruturas fibrosas nos neurónios da zona do córtex cerebral e lesões extracelulares sob a forma de placas.²

A AD é a quinta causa de morte mundial na população idosa e, no entanto, este número não é coerente quando a percentagem de pessoas que sofrem de AD em todo o mundo é baixa. Isto significa que a taxa de mortalidade da AD é alta e continua a aumentar ao longo do tempo. Com o aumento da população idosa em relação às demais faixas etárias, é de esperar que os custos com a AD, a principal forma de demência no mundo, aumentem exponencialmente tornando-se esta patologia num grave problema de saúde pública.²

Depois de mais de 100 anos da sua primeira descrição, a AD continua a ser a doença neurodegenerativa mais estudada. Os resultados obtidos ao longo dos anos têm permitido clarificar os mecanismos da sua fisiopatologia bem como novos potenciais alvos terapêuticos.¹

9. Epidemiologia

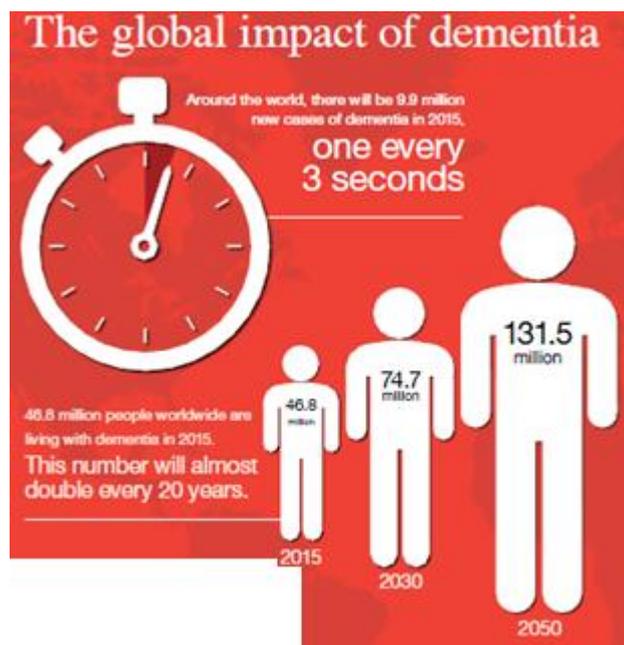


Figura 1 – Epidemiologia da Doença de Alzheimer- (Prince et al., 2015).

Em 2015, a prevalência mundial da doença de Alzheimer era de aproximadamente 46.9 milhões, sendo que nesse mesmo ano foram registados 9.9 milhões de novos casos, o que implica um novo caso registado a cada três segundos. Estima-se que a cada 20 anos este valor duplique.

A distribuição de novos casos a nível mundial não é uniforme. Cerca de metade (49 %) foram diagnosticados na Ásia, 25 % na Europa, 18 % no continente Americano (América do Norte e Sul) e por último 8 % em África (Gráfico 1). Relativamente a dados de 2012, houve um aumento de prevalência na Ásia, América e África e uma diminuição ao nível do continente Europeu.⁴

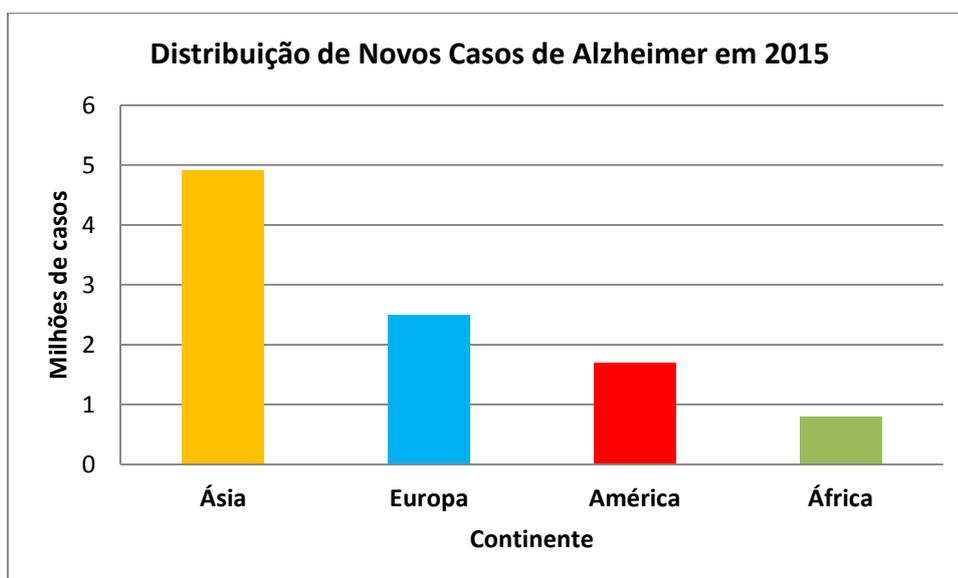


Gráfico I – Distribuição mundial de novos casos de AD em 2015- construído com base nos valores apresentados em (Prince *et al.*, 2015).

A distribuição de casos totais a nível mundial segue a mesma tendência com um total de 22.9 milhões na Ásia, 10.5 na Europa, 9.4 na América e 4.0 milhões em África.⁴

Com base nos dados existentes é possível prever que em menos de 50 anos a AD se torne um sério problema de saúde pública com um grande impacto socio económico.² A doença de Alzheimer apresenta custos, não só económicos (na Europa em 2015 os gastos estimados com a AD na Europa foram 266 mil milhões de euros e a nível mundial os custos ascendem a 818 mil milhões de dólares) mas também sociais. A família fica sujeita a um elevado nível de stresse, estando os cuidadores muito predispostos a sofrer de depressão e distúrbios de ansiedade. Uma revisão científica identificou 10 estudos com um total de 790 cuidadores em que 176 deles (22,3 %) sofriam de depressão.⁵

10. Características Principais da Doença

A doença de Alzheimer afeta cada indivíduo de forma diferente, dependendo do impacto que a doença tem sobre a pessoa, bem como com as morbilidades associadas.⁶ A doença divide-se sobretudo em 3 estádios, tendo cada um deles características específicas:

Fase inicial 1º-2º ano	Fase Intermédia 2º-5º ano	Fase final A partir do 5º ano de doença
<ul style="list-style-type: none"> - Perda de memória recente; - Dificuldades de comunicação (articulação de palavras); - Perda em locais familiares; - Perda de noção do tempo (não saber o dia, mês, ano ou estação do ano em que se encontra); - Apresentar dificuldades em tratar de tarefas domésticas; - Mudanças de personalidade: Perda de vitalidade e interesse Alterações bruscas de humor (ansiedade, depressão) Agressividade (em algumas situações específicas). 	<ul style="list-style-type: none"> - Perda de memória mais acentuada – eventos recentes e nomes de pessoas; - Dificuldade de comunicação (fala e compreensão); - Necessidade de ajuda nos cuidados pessoais (higiene, vestir); - Incapacidade de viver sozinho, com segurança; - Incapacidade de cozinhar, limpar ou fazer compras; - Mudanças de comportamento: Questões repetidas Gritos Distúrbios do sono Alucinações. 	<ul style="list-style-type: none"> - Desorientação no tempo e no espaço; - Dificuldade em perceber o que se passa em redor; - Incapacidade em reconhecer familiares e conhecidos; - Incapacidade de comer de forma independente com consequente dificuldade em deglutir; - Incontinência urinária e/ou fecal; - Alterações de mobilidade – dependência de cadeira de rodas ou estar acamado; - Alterações de humor podem aumentar exponencialmente (agressão, agitação motora).

Tabela I – Sintomas das diferentes fases da AD – Construída com informação retirada de - (World Health Organization, 2012).

Por norma, a fase inicial é desvalorizada pelos familiares e conhecidos.⁶ É difícil estimar quando ocorreu o início do processo patológico uma vez que os sintomas só se manifestam cerca de 10 a 20 anos depois das primeiras modificações histopatológicas e ainda porque, frequentemente, os mesmos são confundidos com características próprias do

envelhecimento.⁷ À medida que a doença vai progredindo, como se pôde verificar na Tabela I, as limitações vão aumentando tornando-se inegável a existência de patologia. A AD evolui até uma fase final de incapacidade e dependência total de terceiros. Os distúrbios de memória tornam-se mais graves e a vertente física da doença torna-se mais evidente.⁶

II. Fatores de Risco

Os fatores de risco são parte do desenvolvimento da doença e estão associados à sua etiologia e ao *outcome* final.⁷ São vários os fatores associados ao aumento de risco de desenvolvimento de AD, sendo os fatores cerebrovasculares os que mais consistentemente têm sido reportados. História clínica de diabetes, hipertensão, dislipidémia, obesidade e tabagismo estão identificados como potenciadores do risco.⁸

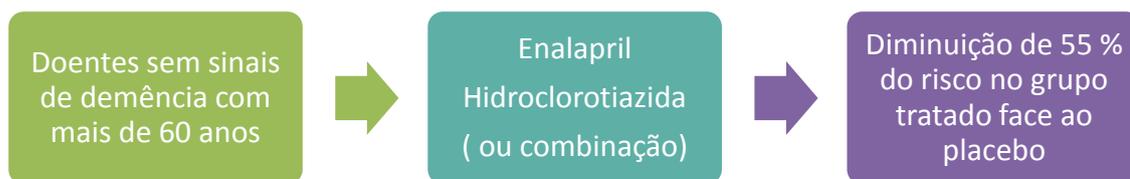
II.1 Doença Cerebrovascular

As doenças cerebrovasculares compreendem sobretudo enfartes e hemorragias cerebrais, vasculopatias e alterações da substância branca. Uma meta análise que incorporou dados de 22 hospitais e dados de 8 *cohorts* conclui que 7,4 % dos doentes que sofrem o primeiro derrame cerebral desenvolvem demência.⁹ Estes acidentes vasculares provocam, numa primeira fase, um dano direto nas regiões cerebrais, como por exemplo o tálamo, relacionadas com a memória, e, numa segunda fase levam a um aumento da deposição de A β o que também potencia o declínio das funções cognitivas.

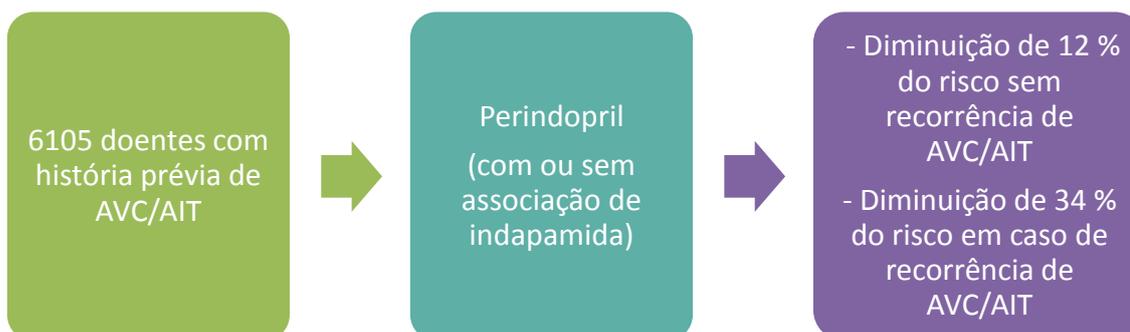
II.2 Hipertensão

A hipertensão arterial é um fator de risco para o desenvolvimento de doenças cerebrovasculares, o que, pelo já mencionado anteriormente, aumenta o risco de desenvolvimento de AD. Na meia idade (40-60 anos) a hipertensão arterial afeta a integridade da barreira hemato-encefálica (BHE) levando ao extravasamento de proteínas para o tecido cerebral. Este extravasamento leva ao dano celular, à diminuição da função sináptica neuronal e da função apoptótica com consequente aumento da acumulação de A β .

É também relatado o facto de o uso de fármacos anti-hipertensores terem um efeito benéfico sobre o declínio cognitivo^{10,11} corroborando assim que a hipertensão é um fator de risco para a AD.



Esquema 1 – Efeito dos fármacos Enalapril e Hidroclorotiazida na diminuição do risco de desenvolver AD – Construído com base em (Forette, 202AD)¹⁰.



Esquema 2 – Efeito dos fármacos Perindopril e Indapamida na redução do risco de desenvolver AD em caso de AVC/AIT prévio – Construído com base em (Tzourio,2003)¹¹
AVC- Acidente Vascular Cerebral; AIT- Acidente Isquémico Transitório.

Recentes estudos científicos apontam a hipertensão arterial como fator protetor na AD a partir dos 60 anos de idade. Na AD a tensão arterial sofre um declínio derivado do estreitamento dos vasos e de modificações na regulação autómica da pressão arterial⁷, pelo que, a hipertensão contraria este fenómeno.

11.3 Diabetes

A presença de diabetes duplica o risco de desenvolvimento de AD. São propostos vários mecanismos para explicar esta correlação:

- A hiperinsulinémia leva à acumulação de A β a nível cerebral uma vez que desregula a clearance de A β por competição com a enzima que degrada a insulina;
- A existência de recetores para os produtos finais da glicação presentes em células associadas às placas senis e placas neurofibrilares.

Algumas evidências sugerem a AD como diabetes tipo três, uma vez que nesta patologia há comprometimento da utilização de glicose e produção de energia. Estas disfunções metabólicas estão relacionadas com a resistência à insulina cerebral e ao fator de crescimento semelhante à insulina com consequente interrupção das vias que regulam a sobrevivência neuronal, produção de energia, expressão de genes e plasticidade cerebral. A inibição destes fatores contribui para a neurodegeneração por aumento de proteínas cinases que promovem a fosforilação da tau, aumento de A β e geração de ROS. As alterações do metabolismo da insulina constituem um novo alvo molecular para o tratamento da AD.¹²

11.4 Tabagismo

Fumar aumenta o risco de desenvolver AD pelo aumento do stresse oxidativo que, *per si*, gera radicais livres e afeta o processo inflamatório, ativando a fagocitose.⁸ A ativação da fagocitose gera mais dano oxidativo. No entanto, os estudos existentes apresentam resultados contraditórios. Fumar pode ter um efeito protetor no desenvolvimento de AD, uma vez que a nicotina induz o aumento de recetores nicotínicos contrabalançando a perda destes recetores e consequente défice colinérgico, característico desta doença.

12. Fatores protetores

12.1 Dieta e nutrição

Estudos epidemiológicos recentes apontam para a importância da dieta e nutrição como fator de risco modificável na AD. Preconizar uma dieta rica em antioxidantes, vitaminas do complexo B, polifenóis e ácidos gordos polinsaturados apresenta benefícios na prevenção da AD. O consumo de peixe, fruta, vegetais e café reduz o risco de desenvolvimento desta doença. O consumo de leite e chá está reportado como tendo um efeito benéfico na cognição, mas a sua influência na AD ainda não se encontra demonstrada.¹³

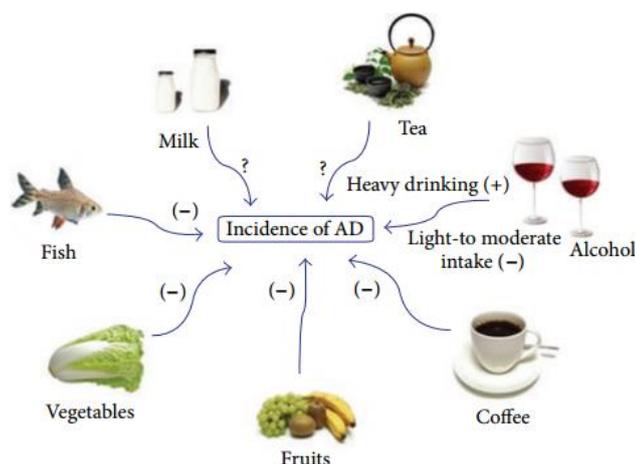


Figura 2 – Nutrição e Alzheimer (Hu *et al.*, 2013)
AD- Doença de Alzheimer.

12.2 Atividade física

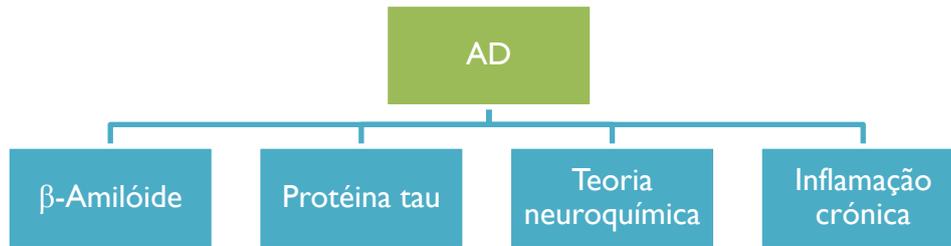
A atividade física promove a boa saúde cerebral. O exercício aeróbio aumenta o fluxo sanguíneo cerebral e melhora a utilização de oxigénio e glucose pelo cérebro. Concomitantemente ativa fatores de crescimento que promovem a densificação da rede capilar.⁷

12.3 Atividade intelectual

Apesar desta correlação ainda não estar totalmente estabelecida, vários estudos prospetivos assumem que indivíduos, jovens ou idosos, sujeitos a estimulação cognitiva através de atividades relacionadas com aprendizagem, leitura e jogos intelectuais estão menos propensos a desenvolver estados de demência, relativamente a indivíduos que não têm este tipo de estimulação.⁷

13. Fisiopatologia da doença de Alzheimer

São várias as hipóteses formuladas para justificar o aparecimento de AD: a cascata da β -amilóide, as modificações pós-transcrição da proteína tau, a teoria colinérgica e ainda a teoria da inflamação crónica.



Esquema 3 – Esquema representativo das 4 hipóteses mais plausíveis para o desenvolvimento de AD
AD- Doença de Alzheimer.

A cascata metabólica da β -amilóide e as modificações pós-transcrição da proteína tau são as hipóteses mais robustas na etiopatogenia da doença de Alzheimer. No entanto, nenhuma delas *per si* é suficiente para explicar a diversidade de anormalidades bioquímicas e patológicas verificadas na doença de Alzheimer.¹⁴

13.1 Cascata da β -amilóide

As **placas de β -amilóide** ($A\beta$) são aglomerados de péptido $A\beta$ insolúveis que resultam da clivagem anormal do precursor da proteína amilóide (APP) – uma proteína transmembranar.¹⁵ A função exata do APP não está totalmente esclarecida, mas pensa-se que esteja envolvida na sinaptogénese, na mediação de respostas celulares a condições isquémicas e atuando como péptido antimicrobiano.¹⁶

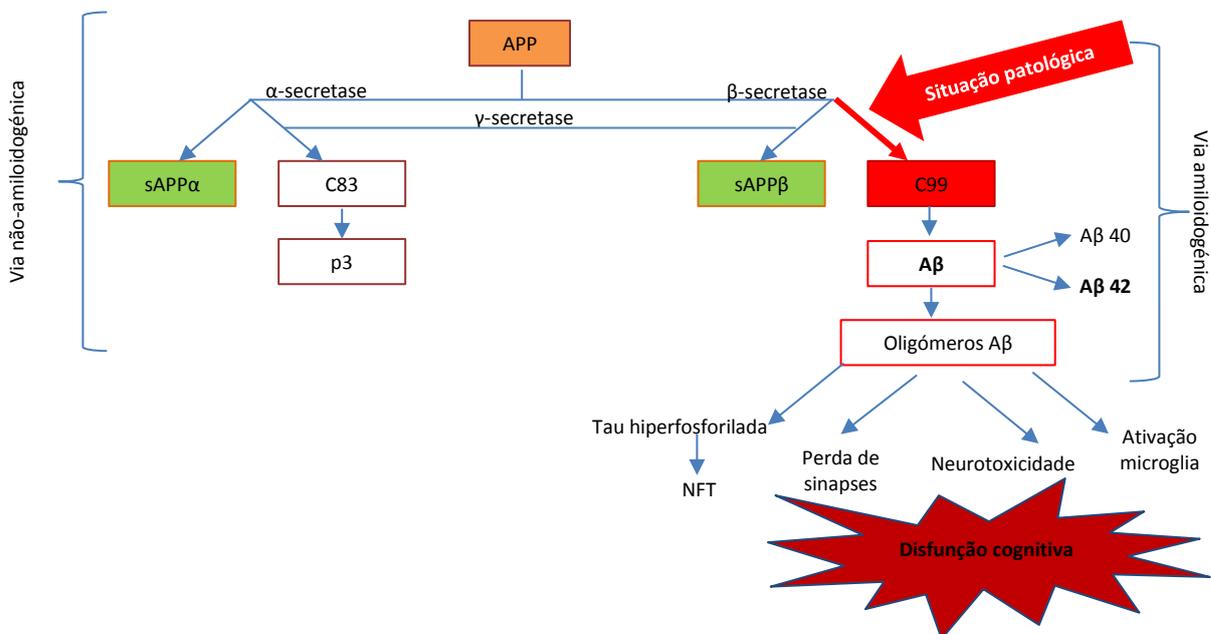


Figura 3 – Diagrama exemplificativo do processamento do APP (Kumar, Singh e Ekavali, 2015)

APP- Protéina Percursora do Péptido Amilóide; sAPP α – fragmento solúvel da clivagem não-amiloidogénica do APP; C83- fragmento com 83 aminoácidos resultante da clivagem não-amiloidogénica do APP; p3- variante truncada de $A\beta$; sAPP β - fragmento solúvel da clivagem amiloidogénica do APP; C99-fragmento com 99 aminoácidos resultante da clivagem amiloidogénica do APP; $A\beta$ - peptídeo amilóide; NFT- emaranhados neurofibrilares.

O APP é processado por duas vias endógenas: a via não-amiloidogénica e a via amiloidogénica. Na primeira, a α -secretase cliva o APP no meio do domínio A β prevenindo desta forma, a geração e libertação do fragmento A β . Esta via dá origem a uma variante truncada de A β (p3) que não está associada à AD e a um produto solúvel o sAPP α , que se pensa ter um papel neuroprotetor.¹⁶

A via amiloidogénica envolve a β -secretase, mais precisamente a BACE1 – enzima de clivagem do local β do APP. Quando clivado por esta secretase ocorre a libertação de um fragmento solúvel, sAPP β , e um fragmento com 99 aminoácidos conhecido com C99. O C99, após clivagem pela γ -secretase, origina A β . Este péptido, envolvido na AD, apresenta uma conformação predominantemente com 40 aminoácidos (rácio 10:1), relativamente ao péptido com 42 aminoácidos.¹⁷ A isoforma A β 42 é mais tóxica e está mais presente na formação de placas.¹⁸ O A β (quer o 40 quer o 42), não sendo solúvel, agrega formando placas identificáveis, denominadas de placas β -amilóides.¹⁵

Os fatores que determinam a via utilizada no processamento do APP ainda não são conhecidos, mas em condições fisiológicas a atividade da α -secretase é predominante.¹⁶

As placas amilóides são capazes de bloquear rapidamente o mecanismo de formação de novas memórias pela alteração da plasticidade sináptica - o distúrbio sináptico e dendrítico alteram as redes neuronais corticais funcionais levando a uma sub-regulação dessas redes comprometendo anatómica e funcionalmente as áreas cerebrais interconectadas. O comprometimento sináptico na AD relaciona-se com o défice cognitivo e é outro componente que contribui para a fisiopatologia da doença.¹⁹

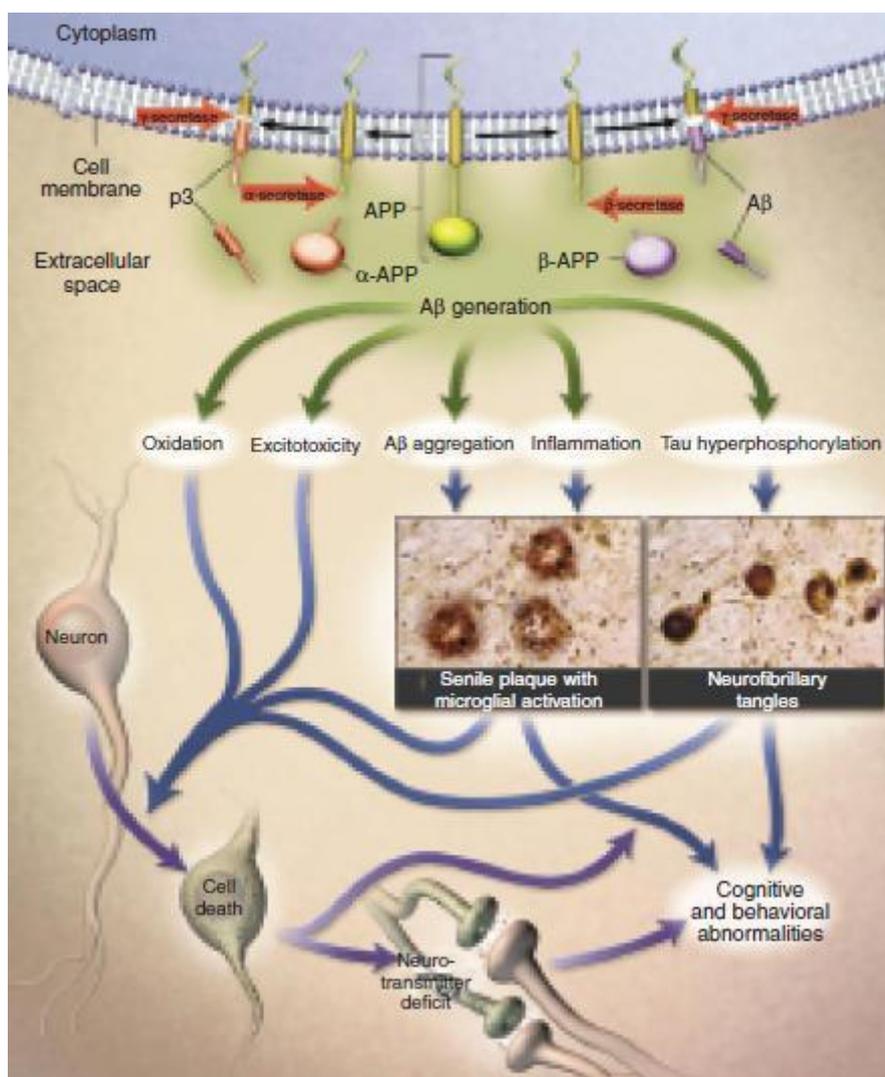


Figura 4 – Diagrama exemplificativo da cascata amiloide (Morrison e Lyketsos, 2005)

APP- Protéina Percursora do Péptido Amilóide; α-APP – fragmento solúvel da clivagem não-amiloidogénica do APP; p3- variante truncada de Aβ; β-APP- fragmento solúvel da clivagem amiloidogénica do APP; Aβ- peptídeo amilóide.

A hipótese da cascata amiloide tem recebido suporte científico a partir de estudos genéticos de casos com a forma familiar da AD (1 % casos de AD) que corroboram a importância da γ -secretase nesta doença.²⁰ Nestes casos foram identificados 2 genes – *PS1* e *PS2* presentes no cromossoma 21. Estes genes codificam a presenilina que pertence à unidade catalítica da γ -secretase. Atualmente, foram já identificadas cerca de 140 mutações no gene *PS1* e aproximadamente 10 no gene *PS2* – mutações na unidade catalítica levam a cortes aberrantes no APP. É interessante verificar que indivíduos com trissomia 21 (três cópias do cromossoma 21) desenvolvem AD numa idade muito mais precoce do que a maioria da população, o que corrobora o fato de estes genes assumirem um papel preponderante nesta doença.¹⁵

Existe ainda outro fator que intervém neste processo de acumulação de $A\beta$ – a apolipoproteína E (ApoE). A Apo E tem três alelos mais comuns $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$. O alelo 3 é o mais prevalente na população em geral e o alelo 2 o menos frequente; no entanto é o que está associado a neuroprotecção na AD. O alelo 4 acarreta um risco superior de desenvolvimento de AD já que atua como chaperona da $A\beta$, levando a mudanças de conformação e toxicidade e por diminuição da clearance promove a sua acumulação.

13.2 Proteína tau

A **proteína tau** está associada aos microtúbulos neuronais, estabilizando-os em condições fisiológicas. Quando ocorre hiperfosforilação desta proteína do citoesqueleto, ela dissocia-se dos microtúbulos e agrega-se sob a forma de filamentos helicoidais insolúveis e estes, por sua vez, em emaranhados neurofibrilares (NFT).¹⁹ Os microtúbulos são componentes essenciais da estrutura celular dos neurónios, que permitem quer o transporte de nutrientes quer a transmissão neuronal até ao axónio. O colapso destes microtúbulos, pela consequente hiperfosforilação da tau, destrói o sistema de transporte e comunicação dos neurónios levando à morte neuronal. Apesar da relação temporal ainda não estar completamente estabelecida, os estudos científicos sugerem que a hiperfosforilação da tau ocorre após a formação das placas β -amilóides.¹⁵

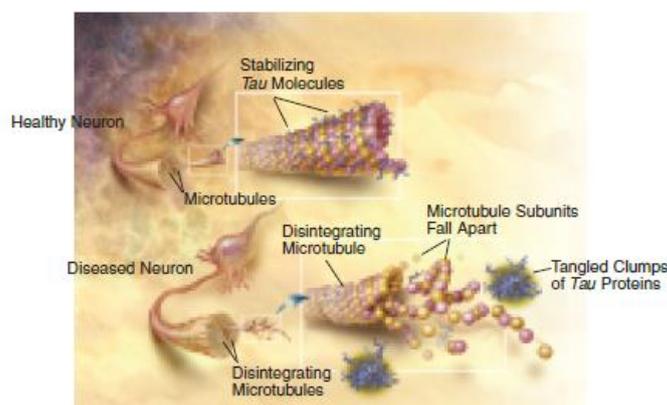


Figura 5 – O papel da tau nos microtúbulos (Morrison e Lyketsos, 2005).

13.3 Teoria neuroquímica

Esta hipótese baseia-se no fato de ocorrer um decréscimo dos níveis de acetilcolina (ACh) na AD. Este decréscimo é resultado da diminuição do número de neurónios

colinérgicos (em fases tardias da doença pode haver um declínio de 75 % nalgumas regiões cerebrais)¹⁵ e da diminuição da síntese de ACh. A acetilcolina é um neurotransmissor cerebral importante e está presente nas regiões que envolvem a memória, pelo que o seu declínio se interliga com o défice cognitivo.

A acetilcolina liga-se a dois tipos de recetores diferentes: os muscarínicos e os nicotínicos. Os recetores pré-sinápticos nicotínicos influenciam a libertação de outros neurotransmissores implicados na doença de Alzheimer relacionados com a memória e o humor – glutamato, serotonina, norepinefrina.

O glutamato é um dos principais neurotransmissores excitatórios, é ubíquo e estima-se que esteja presente em cerca de 66 % das sinapses cerebrais. Na AD a deficiência glutaminérgica não se prende apenas com o glutamato mas com um dos seus recetores ionotrópicos – N-metil-D-aspartato (NMDA) – que parece estar continuamente submetido a ativação. Em situações de repouso o recetor NMDA está ligado ao magnésio e quando ativado ocorre libertação do Mg^{2+} e entrada de cálcio para dentro do neurónio. Na patologia de Alzheimer o glutamato acumula-se na fenda sináptica (ou por diminuição dos locais de recaptção ou por anormalidades no seu transportador) e está constantemente a ativar o recetor NMDA. Esta ativação contínua leva a um influxo crónico de cálcio induzindo um estado de hiperpolarização e consequentemente de excitotoxicidade e morte neuronal.¹⁵

13.4 Inflamação crónica

As placas de β -amilóide, os emaranhados neurofibrilares e os neurónios danificados despoletam uma resposta inflamatória. A microglia está envolvida na resposta imunológica e inflamatória induzida pelos danos que ocorrem a nível cerebral. Durante a patogénese da AD a microglia é ativada libertando moléculas potencialmente citotóxicas como citocinas pró-inflamatórias, espécies reativas de oxigénio (por modificação da permeabilidade das membranas aos canais de cálcio) e proteases. Esta resposta inflamatória é geralmente benéfica para o hospedeiro quando persiste apenas durante um curto período de tempo, mas na AD está associada a citotoxicidade, não apresentando qualquer efeito protetor. As citocinas libertadas exacerbam a resposta inflamatória que por sua vez estimula a apoptose dos neurónios e oligodendrócitos. Vários estudos comprovam o aumento da produção de prostaglandinas sintetizadas pelas COX-1 e COX-2 no cérebro. Esta inflamação é crónica e restrita a determinadas áreas do cérebro.¹⁵

Num estudo foram examinados e comparados os cérebros de 32 doentes sujeitos à administração crónica de um inibidor da COX-1 (indometacina ou ibuprofeno) e de 34 doentes que não foram submetidos a este tipo de tratamento, tendo sido incluídos neste estudo como grupo controlo. Apesar de ambos os grupos terem quantidades aproximadas de placas senis e emaranhados neurofibrilares (NFT), o grupo que realizou a administração crónica de AINEs demonstrou menor ativação da microglia. Este estudo permitiu concluir, que se efetivamente os AINEs apresentam um papel protetor na AD, os mecanismos subjacentes envolvem a supressão da microglia e não a inibição da formação de placas senis e NFT.²¹

A estimulação da resposta inflamatória induz também a ativação dos astrócitos. As citocinas libertadas pela microglia estimulam o processo amiloidogénico nos astrócitos. Os astrócitos, sendo mais numerosos do que os neurónios, representam assim uma via importante de formação de β -amilóide induzida por neuroinflamação.¹⁹

14. Terapêutica atualmente preconizada

O tratamento atualmente preconizado para a AD permite controlar os sintomas das alterações nervosas, comportamentais e de humor. Como estas manifestações não são específicas da AD utilizam-se medicamentos não específicos, nomeadamente antipsicóticos, antidepressivos e ansiolíticos. No entanto, os sintomas relacionados com a disfunção cognitiva são tratados com fármacos especificamente aprovados para AD, nomeadamente o Donepezilo, Galantamina, Rivastigmina e Memantina,²² utilizados em Portugal e que têm demonstrado retardar o percurso da doença.

Os três primeiros são inibidores da acetilcolinesterase e usados na AD leve a moderada e o último, um antagonista dos recetores NMDA, é utilizado na AD moderada a grave.

14.1 Inibidores da acetilcolinesterase

Na AD, como já revisto anteriormente, ocorre um défice de acetilcolina, um neurotransmissor presente nas regiões cerebrais envolvidas nos processos de memória e cujo declínio se correlaciona com o défice cognitivo verificados nos doentes com AD. Desta forma, o uso de inibidores da acetilcolinesterase visa diminuir a degradação de acetilcolina (por inibição das principais enzimas catalíticas- acetil e butirilcolinesterase) e,

consequentemente, promover o aumento da disponibilidade sináptica deste neurotransmissor.²³

As reações adversas mais comuns e mais relevantes nesta classe farmacológica incluem cefaleias, dores generalizadas, fadiga, náuseas, vômitos, anorexia, câibras, insónia, depressão e sonhos anormais. A terapêutica não deve ser suspensa bruscamente pelo risco associado de induzir uma deterioração da função cognitiva.

As interações típicas destes fármacos ocorrem com os anticolinérgicos (inibição do efeito), colinomiméticos/inibidores da colinesterase (potenciação do efeito).²²

A resposta aos inibidores das colinesterases é heterogénea, sendo que alguns doentes beneficiam bastante com este tratamento, contrariamente a outros que não obtiveram efeito terapêutico relevante. No entanto, os estudos que avaliaram a eficácia dos inibidores da acetilcolinesterase mostraram, de forma consistente, que a sua administração em doentes com AD leve a moderada induz benefícios discretos, mas significativos, sobre a cognição, comportamento e capacidades funcionais, em relação ao grupo controlo. Estes resultados são normalmente observados 12 a 18 semanas após o início da administração.

Os inibidores da acetilcolinesterase podem ser classificados com base na sua reversibilidade e duração da inibição das colinesterases.

	Donepezilo	Rivastigmina	Galantamina
Ano de introdução no mercado	1997	1998	2000
Seletividade cerebral	Sim	Sim	Sim
Tipo de inibição da colinesterase	Reversível	Pseudo-irreversível	Reversível
Enzimas inibidas	AchE	AchE , BuhE	AchE
Formulações disponíveis	Comprimidos revestidos por película e orodispersíveis	Cápsulas Solução oral Adesivo transdérmico	Comprimidos revestidos Cápsulas de libertação prolongada

Tabela 2 – Tabela resumo com a classificação e formas farmacêuticos dos I-ACh (Construída com base em informação retirada de (Forlenza, 2005))

AchE- Acetilcolinesterase; BuChE- Butirilcolinesterase.

O Donepezilo e a Galantamina inibem reversivelmente a acetilcolinesterase. A Rivastigmina inibe também a butirilcolinesterase podendo aumentar a incidência de efeitos colaterais periféricos; no entanto, poderá apresentar benefícios adicionais uma vez que esta

enzima está envolvida na maturação da placa senil. O mecanismo de ação da Rivastigmina relaciona-se com a formação de um complexo que se liga covalentemente ao local alostérico da acetilcolinesterase. A inibição é pseudo-irreversível porque este complexo dissocia-se do local de ligação muito mais lentamente que a própria acetilcolina. Este mecanismo explica o facto de o tempo de inibição da acetilcolinesterase (10 horas) ser muito superior ao previsto tendo em conta o curto tempo de semi-vida plasmática (1 hora).

14.2 Antagonista não competitivo dos recetores NMDA

A Memantina, um antagonista dos recetores NMDA, é utilizada em casos de AD moderada a grave, quer em monoterapia quer em associação com inibidores da acetilcolinesterase. Os mecanismos celulares e moleculares que sustentam a utilização deste fármaco relacionam-se com as alterações na neurotransmissão glutaminérgica verificadas nos doentes com AD.

Em condições fisiológicas a Memantina exerce uma ação semelhante ao magnésio. Bloqueia os recetores NMDA em estado de repouso, mesmo na presença de excesso de glutamato e, é deslocada do local de ligação apenas em condições de ativação fisiológica, como por exemplo no processo de formação de memórias.²⁴

Os principais efeitos adversos deste princípio ativo são tonturas, cefaleias, obstipação, sonolência e hipertensão. Decorrente do seu mecanismo de ação a Memantina interage de forma mais relevante com a L-dopa, os agonistas dopaminérgicos e com os anticolinérgicos.

Em Portugal, o princípio ativo Memantina é comercializado com o nome comercial Ebixa e Axura e como medicamento genérico. As formas farmacêuticas disponíveis incluem comprimidos revestidos por película e solução oral. Esta última forma farmacêutica é especialmente importante em doentes que apresentam dificuldade na deglutição.

15. Estratégias terapêuticas disponíveis e perspectivas futuras

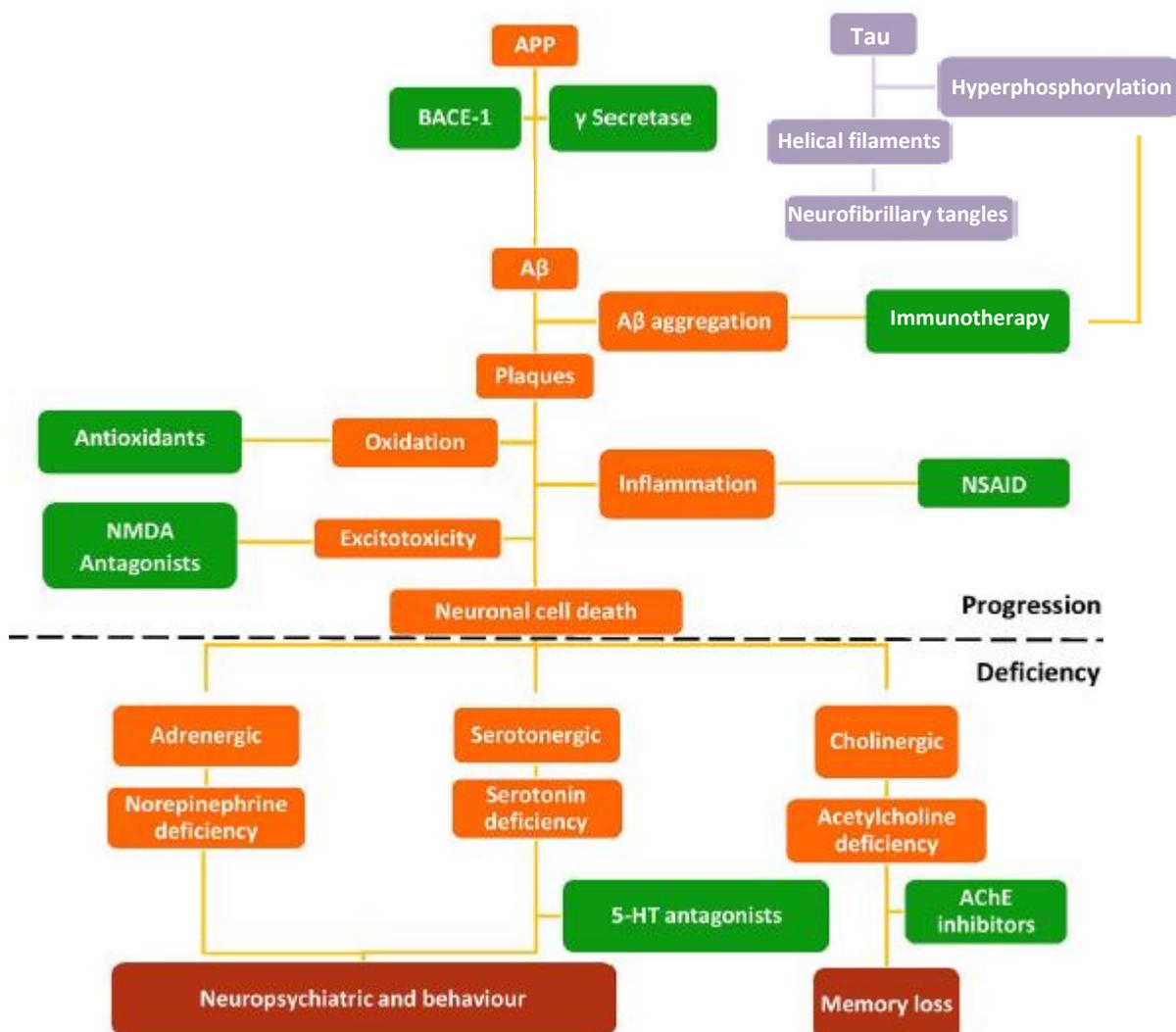


Figura 6 – Esquema representativo dos alvos terapêuticos disponíveis na AD (Adaptado de (Hughes, Nikolic e Ramsay, 2016))

APP- Protéina Percursora do Péptido Amilóide; Aβ- peptídeo amilóide; BACE-1 – Beta secretase 1; NSAID – Anti-inflamatório não-esteróide; NMDA- N-metil-D-aspartato; 5-HT – 5- Hidroxitriptamina; AChE- Acetilcolinesterase.

O facto de a AD ser uma patologia multifatorial despoleta o estudo de vários alvos terapêuticos, tal como demonstrado na figura 6.²⁵ No entanto, as terapêuticas atualmente disponíveis demonstram ter capacidade reduzida em modificar o curso da doença, conseguindo apenas controlar os seus sintomas e retardar a progressão. Deste modo, é essencial o estudo e desenvolvimentos de estratégias terapêuticas inovadoras e eficazes.

Nesta monografia pretende-se ainda identificar as alternativas terapêuticas atuais para o tratamento da AD- a imunoterapia ativa, ou seja, vacinação.

15.1 Vacinas tendo como antígeno A β

A possibilidade de prevenir a doença usando uma vacina poderá apresentar maior sucesso terapêutico relativamente ao tratamento do doente após a manifestação de sintomas.

Em 1999 Schenk e seus colegas foram os primeiros a demonstrar que a imunização com o A β poderia reduzir a deposição de placas amilóides em cérebros de ratos geneticamente modificados para expressar AD com sintomas semelhantes aos observados em humanos.

O desenvolvimento de anticorpos específicos para A β demonstrou reduzir os sintomas da AD por três mecanismos hipotéticos, demonstrados na figura 7:

- 1- Os anticorpos que se conseguiram ligar diretamente à placa senil destabilizavam as ligações de A β ;
- 2- Os anticorpos ligavam-se à placa e promoviam a sua fagocitose através de células da glia;
- 3- Os anticorpos que não conseguiram atravessar a barreira hemato-encefálica ligavam-se às moléculas de A β circulante. Por gradiente de concentração as moléculas de A β presentes a nível cerebral deslocar-se-iam para o sangue e plasma diminuindo assim, a sua concentração a nível cerebral.²

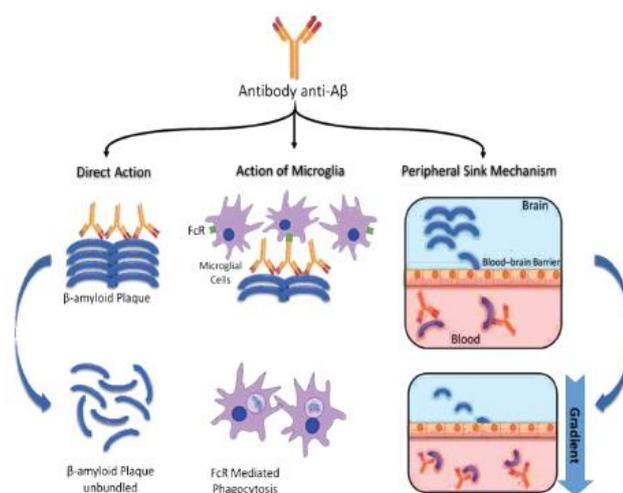


Figura 7 – Mecanismo da remoção da A β via anticorpos específicos (Alves *et al.*, 2014)
A β - peptídeo amilóide.

Como resposta a estes resultados pré-clínicos iniciaram-se estudos clínicos por forma a testar a segurança e potencial eficácia das vacinas na AD.²⁶

15.1.1 ANI792

A primeira vacina foi desenvolvida pelas indústrias farmacêuticas Elan Pharmaceuticals e Wyeth Corporation, em 2001. A ANI792 consistia no péptido total de A β com o adjuvante QS21 (saponina proveniente de extrato de saponária).

Na fase I do ensaio clínico, verificou-se ocorrer produção de anticorpos específicos em mais de metade dos participantes imunizados sem ocorrência de efeitos adversos notáveis. Encorajada pelos resultados positivos, a equipa prosseguiu o estudo para ensaios clínicos de fase II com um grupo maior de doentes com AD (375) a fim de testar a sua segurança e eficácia. Apesar de se verificarem melhorias nos sintomas e na redução das placas senis, o estudo teve que ser interrompido, uma vez que 6 % dos participantes desenvolveram meningoencefalite.²⁶ Uma vez que em doentes de idade mais avançada aumenta o número de não respondedores à vacinação, no referido ensaio clínico de fase II estabeleceu-se um esquema de administração baseado numa posologia repetitiva com uma quantidade maior de antígeno, situação que aumenta o risco de ativação não específica de células T.²⁷ Estudos posteriores provaram que a sensibilização constante com o A β (antígeno) ligada a um adjuvante forte (que ativa uma resposta imunológica do tipo Th1) induziu uma resposta auto-imune Th1 por infiltração destes linfócitos a nível cerebral, com consequente exacerbação da neuroinflamação, mecanismo responsável pelo desenvolvimento de meningoencefalite. De acordo com a conclusão obtida, sugeriu-se que nos estudos seguintes fossem eliminados os fragmentos que provocariam a ativação da resposta não específica Th1, mantendo o componente ativo, o epítipo que estimularia a ativação de células B para a produção de anticorpos e um epítipo de células T não endógenas, a que o indivíduo já tivesse sido previamente sensibilizado (exemplo tétano, difteria, influenza), de forma a não se desenvolver uma resposta auto-imune (Figura 8).

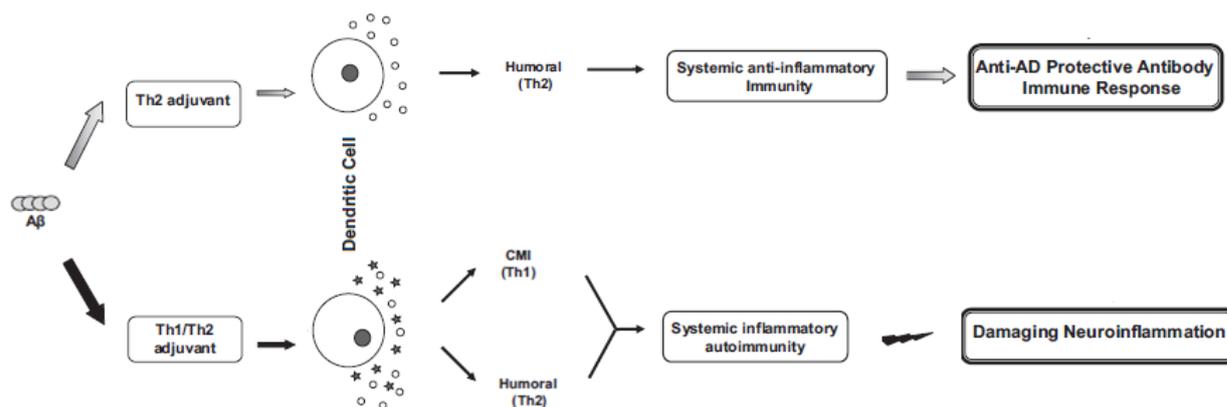


Figura 8 – Utilização de epítopos de células T sem reação auto-imune (Marciani, Dante 2016)

Th1- células T helper 1; Th2- células T helper 2.

Após a interrupção do estudo, 159 doentes que demonstraram títulos de anticorpos específicos A β , foram seguidos durante 4 anos e 7 meses mostrando regressão dos sintomas com melhoria cognitiva. Após o tempo de *follow-up*, o tecido cerebral de alguns dos doentes falecidos neste período foi submetido a biópsia que comprovou a efetiva diminuição de placas senis e emaranhados neurofibrilares face ao grupo não imunizado.²⁸ Apesar dos penosos efeitos adversos, este ensaio clínico provou que a imunização ativa pode ser benéfica na AD, abrindo o caminho para a investigação no campo da vacinação.

15.1.2 CADI06

O CADI06, desenvolvido pela Novartis, compreendia um fragmento de A β (A β_{1-6}) conjugado com um bacteriófago (adjuvante). O CADI06 foi desenhado para assegurar a apresentação repetitiva de antígeno (A β_{1-6}) e a resposta das células B, levando à produção de anticorpos específicos e evitando uma resposta mediada pelas células Th1.

Estudos pré-clínicos demonstraram a possibilidade do CADI06 reduzir a acumulação de A β pela indução de anticorpos que interferiram com a deposição de amiloide, sob a forma de placas, e se ligavam aos agregados já formados. Com base nestes resultados, avançou-se para o estudo de fase I em humanos a fim de avaliar a sua segurança, tolerabilidade e resposta específica anti-A β com a administração de três injeções subcutâneas, ou de CADI06 ou de placebo, em doentes com AD leve a moderada. Verificou-se um bom perfil de segurança com a produção necessária de anticorpos sem que houvesse uma reação auto-imune. Concluiu-se também que a concentração de A β livre no plasma tinha diminuído, o que validou a ligação in vivo dos anticorpos à proteína A β .

Na fase II do estudo, preconizou-se um ensaio multicêntrico, randomizado, duplamente cego, controlado por placebo com a duração de 52 semanas (3 injeções). Doentes que passaram este estudo sem efeitos adversos graves (note-se que houve doentes a reportar problemas cardíacos) puderam ser incluídos num *follow up* de 66 semanas (4 injeções).

Este estudo permitiu concluir que um tratamento continuado com CAD106 induz a produção de anticorpos baixando a quantidade de A β no plasma. O perfil de segurança e tolerabilidade de CAD106 (resposta sustentada sem ativação de resposta T) sugere que esta vacina pode ser usada no tratamento crónico da AD.

Atualmente está a ser testado um intervalo de 12 semanas entre 7 injeções, a fim de avaliar se este regime terapêutico é suficiente para manter os títulos de anticorpos.²⁹

15.2 Vacinas de DNA

Uma alternativa à típica imunização ativa, são as vacinas de DNA, ainda em ensaios pré-clínicos. Estas vacinas têm a vantagem de induzir a produção endógena e prolongada de anticorpos. São menos difíceis de produzir, têm maior estabilidade o que leva a menores custos.³⁰ Nestas vacinas, não é injetado o péptido A β 42 mas um fragmento de DNA que o codifica. O fragmento de DNA injetado é traduzido nos indivíduos imunizados despoletando depois a reação imune necessária. Foi demonstrado em ratos transgênicos que esta imunização diminui em 41 % os níveis de A β 42 livre no cérebro e em 50 % as placas senis.

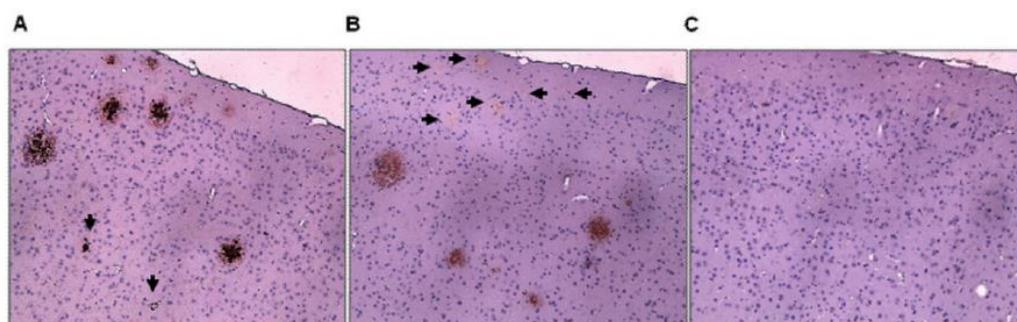


Figura 9 – Resultados de imunohistoquímica do cérebro de rato sujeito a 10 imunizações com o péptido A β 42 e com elevados títulos de anti-A β 42 IgG no plasma (Lambracht-Washington e Rosenberg, 2013).

Os resultados deste estudo são promissores. A Figura 9 mostra cortes do cérebro de ratos transgênicos tratados com a vacina em estudo e sujeitos a imunohistoquímica com anticorpo monoclonal de coelho (anti-IgG de rato) e com anticorpo comercial específico para o péptido A β 42. Estas imagens revelam que efetivamente houve ligação entre os anticorpos produzidos e A β .

- A. Marcação de IgG anti-A β 42 do rato com anticorpo monoclonal de coelho (anti-IgG de rato) indicando que os anticorpos induzidos pela vacina estão presentes e se ligaram à placa amiloide;
- B. Esta Figura sugere ocorrer redução das placas senis (marcadas com anticorpo comercial – 4G8 – específico para o péptido A β 42) à superfície do corte histológico (assinaladas com setas) devida à ação dos anticorpos (anti-A β 42) produzidos. Verificam-se ainda 2 placas neste corte não evidenciadas em A (assinaladas com uma seta em A). Isto deve-se à penetrabilidade dos anticorpos anti-A β 42, que atuam primeiro à superfície (onde se notam menos placas), depois a meio do corte (onde ainda se notam alterações positivas) e só depois em profundidade, onde chega uma pequena quantidade de anticorpo;
- C. Controlo da especificidade da marcação sendo utilizados apenas os anticorpos secundários.³¹

15.3 Vacinas tendo como antigénio a proteína tau

O grau de dificuldade em formular uma vacina que confira imunização contra a proteína tau é mais elevado uma vez que esta proteína é 10 vezes maior que a A β . Quando formulada tem que ser usado um péptido/fragmento ao invés da proteína integral.³² No cérebro de pessoas saudáveis são encontrados 10 locais de fosforilação, enquanto num doente com AD este valor ascende aos 45. Estes resultados sugerem que certas imunoterapias em estudo têm como alvo locais de fosforilação presentes na tau fisiológica, levantando preocupações acerca da segurança das mesmas. Assim foi desenvolvida, pela AXON Neuroscience, uma estratégia alternativa que se baseia num determinante estrutural essencial na interação patológica tau-tau. O objetivo é prevenir a oligomerização, hiperfosforilação, e conseqüente formação de emaranhados neurofibrilares.

No momento, decorre um estudo clínico, de uma vacina baseada nesta estratégia – a vacina AADvac I.

A AADvac I consiste num péptido (²⁹⁴KDNIKHVPGGS³⁰⁵) derivado da proteína tau não-fosforilada, tendo o hidróxido de alumínio como adjuvante. Este péptido pertence ao domínio de regulação da oligomerização da tau e foi selecionado pela equipa investigadora depois de ter sido detetado pelo anticorpo DC8E8 numa proteína tau desorganizada responsável pela interação patológica tau-tau. Foi medido o nível de produção de anticorpos, por ELISA indireto, contra o péptido, contra a tau desorganizada e contra a tau fisiológica.

Para a tau fisiológica foi detetado um valor de anticorpos cinco vezes inferior ao produzido contra o imunogénio, antecipando, desta forma, uma razoável seletividade da vacina (descriminação entre tau fisiológica e patológica).

Os estudos pré-clínicos recolheram dados de segurança relativamente a ensaios realizados durante 6 meses em ratos, coelhos e cães. A vacina é reportada como tendo diminuído a tau fosforilada. Atuando na fase precoce da oligomerização da tau, que precede a sua hiperfosforilação, remove a tau desordenada que funciona como substrato para a hiperfosforilação. As figuras 10 e 11 demonstram os efeitos encontrados – redução da tau hiperfosforilada e redução dos NFT.³³

Em março de 2013, foi iniciado o estudo de fase I em 30 doentes com AD ligeira a moderada. Foram preconizadas 3 injeções subcutâneas, 1 por mês, a fim de avaliar a segurança, tolerabilidade e imunogenicidade da AADvac1.

O estudo de fase I permitiu concluir que a vacina induz altos níveis de anticorpos, na maioria dos doentes, apresentando um bom perfil de segurança e tolerabilidade (apesar de 2 efeitos adversos graves – infeção viral com crise epilética). Desde dezembro de 2015, e até 2018, decorre o estudo de fase II em que se avalia o efeito de 8 vacinas subcutâneas da vacina *versus* placebo.³⁴

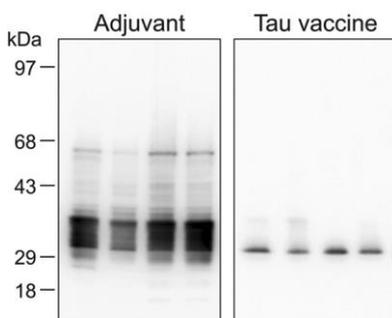


Figura 10 – Tau hiperfosforilada em ratos tratados só com adjuvante vs ratos tratados com AADvac1 – *Western blot* utilizando o anticorpo monoclonal DC25 (reconhece tau fosforilada e não fosforilada). A imunização conferida com a vacina levou à **redução significativa dos níveis de tau hiperfosforilada** (30-36 kDa), dos oligómeros de tau (>36 kDa) medidos com anticorpos monoclonais para a tau. (Kontsekova *et al.*, 2014).

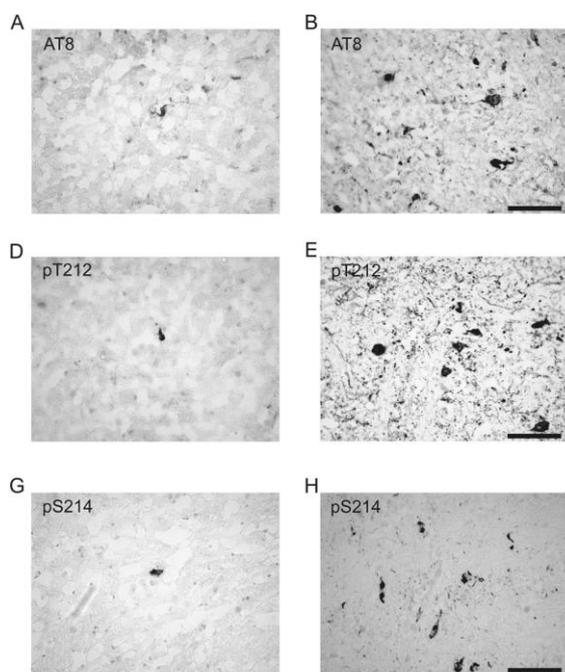


Figura 11 – AADvacI reduz a formação de emaranhados neurofibrilares (NFT).

A,D,G – corte histológico, com 3 marcadores distintos, de ratos tratados com AADvacI;
B,E,H – corte histológico, com 3 marcadores distintos, de ratos tratados apenas com adjuvante;
(Kontsekova *et al.*, 2014).

Anticorpos (primários) utilizados:

AT8 (reconhece Ser202/Thr205 de filamentos helicoidais de tau fosforilada – sem reatividade cruzada com tau não fosforilada);

pT212 (reconhece tau fosforilada e não fosforilada em Thr212);

pS214 (reconhece tau fosforilada em Ser204- sem reatividade cruzada com tau não fosforilada).

16. Conclusão

Ao longo das últimas décadas, o conhecimento dos mecanismos celulares e moleculares subjacentes à fisiopatologia da AD tem aumentado substancialmente. No entanto, os vários estudos científicos e clínicos realizados não se traduziram, até ao momento, numa terapêutica de sucesso. Com o aumento da prevalência e dos custos associados à doença, esta patologia tornou-se um sério problema de saúde pública que urge por uma por uma estratégia terapêutica eficaz.

É relevante encarar a Doença de Alzheimer não como uma patologia amilóide ou uma patologia da tau, mas sim como uma doença multifatorial em que cada mecanismo fisiopatológico associado (hipótese neuroquímica, inflamação crónica, doença metabólica) deve ser visto como uma peça de um puzzle ainda algo distante da sua conclusão.

Com esta monografia, e toda a pesquisa nela envolvida, é perceptível que a comunidade científica está fortemente empenhada em encontrar uma estratégia terapêutica para esta eminente «epidemia». Os ensaios clínicos desenvolvidos nas últimas décadas, apesar de ainda não terem dado origem a um produto final concreto, reuniram evidência científica que sustenta e inventiva o desenvolvimento de uma vacina para o tratamento da AD. As vacinas testadas até ao momento foram desenvolvidas com o intuito de tratar, não tendo sido posto em prática o desenvolvimento de uma estratégia preventiva. No meu ponto de vista, apostar numa estratégia preventiva merecia mais suporte e dedicação.

O papel do farmacêutico nesta patologia pode passar, claro está, pela vertente investigacional e ainda pelo apoio ao nível da comunidade, nomeadamente pela educação ao nível dos fatores modificáveis, pela identificação de sinais na farmácia comunitária, tão visitada pela população idosa, e ainda pelo apoio à família no que refere à gestão e adesão do doente à terapêutica.

Nunca esquecendo, o Farmacêutico, qualquer que seja a patologia, é um elo fundamental entre o doente e o medicamento.

17. Bibliografia

1. SERPENTE, Maria *et al.* - Innate immune system and inflammation in Alzheimer's disease: From pathogenesis to treatment. **NeuroImmunoModulation**. . ISSN 14230216. 21:2-3 (2014) 79–87. doi: 10.1159/000356529.
2. ALVES, R. P. S. *et al.* - Alzheimer's disease: is a vaccine possible? **Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas médicas e biológicas / Sociedade Brasileira de Biofísica ... [et al.]**. . ISSN 1414-431X. 47:6 (2014) 438–44.
3. HIPPIUS, Hanns; NEUNDRFER, Gabriele - The discovery of Alzheimer's disease. **Dialogues in Clinical Neuroscience**. . ISSN 12948322. 5:1 (2003) 101–108. doi: 10.1055/s-2008-1026558.
4. PRINCE, Martin *et al.* - World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia - An analysis of prevalence, incidence, cost and trends. **Alzheimer's Disease International**. . ISSN 0963-7214. (2015) 84. doi: 10.1111/j.0963-7214.2004.00293.x.
5. CUIJPERS, P. - Depressive disorders in caregivers of dementia patients: a systematic review. **Aging & Mental Health**. . ISSN 1360-7863. 9:4 (2005) 325–330. doi: 10.1080/13607860500090078.
6. WORLD HEALTH ORGANIZATION - Dementia: a public health priority. **Dementia**. . ISSN 03045412. (2012) 112. doi: 978 92 4 156445 8.
7. REITZ, Christiane; BRAYNE, Carol; MAYEUX, Richard - Epidemiology of Alzheimer disease. **Nature reviews. Neurology**. . ISSN 1759-4766. 7:3 (2011) 137–52. doi: 10.1038/nrneurol.2011.2.
8. MAYEUX, Richard; STERN, Yaakov - Epidemiology of Alzheimer disease. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**. . ISSN 2157-1422. 2:8 (2012). doi: 10.1101/cshperspect.a006239.
9. PENDLEBURY, Sarah T.; ROTHWELL, Peter M. - Prevalence, incidence, and factors associated with pre-stroke and post-stroke dementia: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Neurology**. . ISSN 14744422. 8:11 (2009) 1006–1018. doi: 10.1016/S1474-4422(09)70236-4.
10. FORETTE, Françoise; Seux Marie; Staeseen Jan ET AL - The Prevention of Dementia With Antihypertensive Treatment. **Arch Intern Med**. (2002) 162(18):2046-2052. doi:10.1001/archinte.162.18.2046.

11. TZOURIO C, et all. Effects of blood pressure lowering with perindopril and indapamide therapy on dementia and cognitive decline in patients with cerebrovascular disease. **Arch Intern Med.** (2003) 163(9):1069-1075. doi:10.1001/archinte.163.9.1069.
12. LUCHSINGER, J. A; TANG M. X; STERN, Y; SHEA, S; Mayeux R. - Diabetes Mellitus and Risk of Alzheimer's Disease and Dementia with Stroke in a Multiethnic Cohort. **American Journal of Epidemiology.** . ISSN 00029262. 154:7 (2001) 635–641. doi: 10.1093/aje/154.7.635.
13. HU, Nan et al. - Nutrition and the risk of Alzheimer's disease. **BioMed research international.** . ISSN 2314-6141. 2013:2013) 524820. doi: 10.1155/2013/524820.
14. SUZHEN, Dong et al. - Advances in the pathogenesis of Alzheimer's disease: a re-evaluation of amyloid cascade hypothesis. **Translational Neurodegeneration.** . ISSN 2047-9158. 1:1 (2012) 18. doi: 10.1186/2047-9158-1-18.
15. MORRISON, Ann S.; LYKETSOS, Constantine - R Eview the Pathophysiology of Alzheimer ' S Disease. **Advanced Studies in Nursing.** 3:8 (2005) 256–270.
16. DOREY, Evan et al. - Apolipoprotein E, amyloid-beta, and neuroinflammation in Alzheimer's disease. **Neuroscience Bulletin.** . ISSN 19958218. 30:2 (2014) 317–330. doi: 10.1007/s12264-013-1422-z.
17. MARZOLO, M; BU, G; Lipoprotein receptors and cholesterol in APP trafficking and proteolytic processing, implication for Alzheimer's disease. **Semin Cell Dev Biol.** . ISSN 15378276. (2009) doi 10.1016/j.semcdb.
18. ZHOU, Xiaoling et al. - An overview on therapeutics attenuating amyloid β level in Alzheimer's disease: Targeting neurotransmission, inflammation, oxidative stress and enhanced cholesterol levels. **American Journal of Translational Research.** . ISSN 19438141. 8:2 (2016) 246–269.
19. ENGELHARDT, Elias - Aspectos da fisiopatologia da doença de Alzheimer esporádica Pathophysiological features of sporadic Alzheimer ' s disease. **Rev Bras Neurol.** 48:4 (2012) 21–29.
20. SERENIKI, A; VITAL, M. A. B. F. - A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos. **Revista de Psiquiatria.** . ISSN 0101-8108. 30:1 (2008) 0–0. doi: 10.1590/S0101-81082008000200002.
21. MCGEER, Patrick L.; MCGEER, Edith G. - Targeting microglia for the treatment of Alzheimer ' s disease. . ISSN 1472-8222. (2014) 1–10. doi: 10.1517/14728222.2014.988707.

22. Prontuário Terapêutico Online - Disponível em WWW: <URL <https://www.infarmed.pt/prontuario/index.php> >
23. FORLENZA, Orestes V. - Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer. **Revista de Psiquiatria Clínica**. . ISSN 01016083. 32:3 (2005) 137–148. doi: 10.1590/S0101-60832005000300006.
24. MAKINO, K; PORSTEINSSON, A; Memantine: A Treatment for Alzheimer’s Disease With a New Formulation. **Aging Health**. 2011. 349-362.
25. HUGHES, Rebecca E.; NIKOLIC, Katarina; RAMSAY, Rona R. - One for All? Hitting Multiple Alzheimer’s Disease Targets with One Drug. **Frontiers in Neuroscience**. . ISSN 1662-453X. 10:April (2016) 1–10. doi: 10.3389/fnins.2016.00177.
26. A., Fettelschoss; F., Zabel; M.F., Bachmann - Vaccination against Alzheimer disease: An update on future strategies. **Human Vaccines and Immunotherapeutics**. . ISSN 2164-554X. 10:4 (2014) 847–851.
27. ROBINSON, Stephen R. *et al.* - Lessons from the AN 1792 Alzheimer vaccine: Lest we forget. **Neurobiology of Aging**. . ISSN 01974580. 25:5 (2004) 609–615. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2003.12.020.
28. VELLAS, Bruno *et al.* - Long-term follow-up of patients immunized with AN1792: reduced functional decline in antibody responders. **Current Alzheimer research**. . ISSN 1875-5828. 6:2 (2009) 144–51. doi: 10.2174/156720509787602852.
29. FARLOW, Martin R. *et al.* - Long-term treatment with active A β immunotherapy with CAD106 in mild Alzheimer’s disease. **Alzheimer’s research & therapy**. . ISSN 1758-9193. 7:1 (2015) 23. doi: 10.1186/s13195-015-0108-3.
30. CRIBBS, David H. - Abeta DNA vaccination for Alzheimer’s disease: focus on disease prevention. **CNS & neurological disorders drug targets**. . ISSN 1996-3181. 9:2010) 207–216.
31. LAMBRACT-WASHINGTON, Doris; ROSENBERG, Roger N. - Advances in the development of vaccines for Alzheimer’s disease. **Discovery medicine**. . ISSN 1944-7930. 15:84 (2013) 319–26. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.08.021.Secreted.
32. MARCIANI, Dante J. - A retrospective analysis of the Alzheimer’s disease vaccine progress - The critical need for new development strategies. **Journal of Neurochemistry**. . ISSN 14714159. 2016) 687–700. doi: 10.1111/jnc.13608.
33. KONTSEKOVA, Eva *et al.* - First-in-man tau vaccine targeting structural determinants essential for pathological tau–tau interaction reduces tau oligomerisation and neurofibrillary degeneration in an Alzheimer’s disease model. **Alzheimer’s**

Research & Therapy. . ISSN 1758-9193. 6:4 (2014) 44. doi: 10.1186/alzrt278.

34. ALZFORUM-NETWORKING FOR A CURE - Disponível em WWW: <URL <http://www.alzforum.org/therapeutics/aadvac-1>> [Consultado em 16 de junho de 2016]