

Sara Maria Pereira Alves Cunha

Novos sistemas terapêuticos para a administração de fármacos utilizados no tratamento
de doenças neurodegenerativas: Alzheimer e Parkinson

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2015

Sara Maria Pereira Alves Cunha

Novos sistemas terapêuticos para a administração de fármacos utilizados no tratamento
de doenças neurodegenerativas: Alzheimer e Parkinson

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2015

Sara Maria Pereira Alves Cunha

Novos sistemas terapêuticos para a administração de fármacos utilizados no tratamento
de doenças neurodegenerativas: Alzheimer e Parkinson

Assinatura do aluno: _____

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa por Sara Maria Pereira Alves
Cunha, como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Ciências
Farmacêuticas, sob a orientação da Prof. Doutora Ana Catarina Silva

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2015

Resumo

Este trabalho foi realizado para conclusão do mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas. Consiste na revisão relativa ao estado da arte dos fármacos e das formas farmacêuticas utilizadas para o tratamento de doenças neurodegenerativas, e dos avanços tecnológicos utilizados para a produção de sistemas terapêuticos alternativos e mais eficientes que as formas convencionais.

No início do trabalho é efetuada uma descrição do sistema nervoso central (SNC) ao nível das suas funções, estrutura e organização, bem como os mecanismos envolvidos no desenvolvimento de doenças, nomeadamente, a doença de Alzheimer e de Parkinson. De seguida, são apresentados diversos fármacos habitualmente utilizados no tratamento destas doenças, veiculados em formas farmacêuticas convencionais e em novos sistemas terapêuticos, que ainda se encontram em fase de desenvolvimento ou aprovação.

Esta revisão de literatura tem a intenção de analisar os tratamentos convencionais e terapias alternativas fornecidas pela nanomedicina para a doença de Alzheimer e doença de Parkinson.

Palavras-chave: Sistema Nervoso Central, SNC; Doença de Alzheimer; Doença de Parkinson; Formas Farmacêuticas Convencionais; Novas Sistemas Terapêuticos.

Abstract

This work was carried out to complete the integrated master's degree in Pharmaceutical Sciences. It consists in the review on the state of the art of drugs and pharmaceutical dosage forms used for the treatment of neurodegenerative diseases. Furthermore, a description of the technological advances used for the production of alternative and more efficient delivery systems is also presented.

The work starts with a description of the central nervous system (CNS) regarding its functions, structure and organization, as well as the mechanisms involved in the development of Alzheimer's and Parkinson's disease. Subsequently, are presented several drugs commonly used to treat these diseases, which are available in conventional dosage forms, and examples of new therapeutic systems, which are under development or in approval processes.

This literature review aims to analyze the conventional treatments and alternative therapies provided by nanomedicine for Alzheimer's and Parkinson's disease.

Keywords: Central Nervous System, CNS; Alzheimer's Disease; Parkinson's Disease; Pharmaceutical Conventional Dosage Forms; New Therapeutic Systems.

Dedico esta dissertação de mestrado aos meus pais e à memória do meu avô:

“Muitas coisas bonitas não podem ser vistas ou tocadas, elas são sentidas dentro do coração. O que vocês fizeram por mim é uma delas. E eu agradeço do fundo do meu coração. Obrigado!

Agradecimentos

Nenhuma obra, particularmente uma dissertação de mestrado, pode ser levada a bom termo sem apoios pessoais e institucionais. De ambos beneficiei e, por isso, não poderia deixar de os registrar aqui.

Desde já, apresento os meus sinceros agradecimentos aos meus pais, cujo amor é um combustível que capacita qualquer ser humano comum a fazer o impossível. Obrigada mãe, doçura de mel, pelas tuas palavras sempre tão reconfortantes, astutas e proferidas nos momentos certos. Obrigado pelo carinho, pela preocupação, pela amizade, pela dedicação e pelo incentivo a que sempre me habituaste e que permitiu que me tornasse uma pessoa melhor. Obrigado pai, meu guerreiro fiel, por me teres ensinando a ser uma pessoa mais forte, por todas as nossas conversas sobre como a vida pode, realmente, ser desfrutada e vivida intensamente, oferecendo e colhendo momentos inesquecíveis, que da nossa história farão parte. Obrigado por acreditares, muito mais do que eu, nas minhas capacidades, pela coragem, pela força e pela determinação com que sempre me disseste “tu consegues”. És e sempre serás o meu grande motor para tentar ser cada vez melhor, pessoalmente e profissionalmente. Certamente, sem o vosso apoio, não conseguiria chegar até aqui.

À minha irmã e melhor amiga, agradeço por ter estado sempre ao meu lado, por me fazer sorrir, quando a vontade era de chorar, por partilhar comigo tantas coisas na vida... Poderia dizer muito sobre ti, mas as palavras nunca seriam justas o bastante para expressar o quanto eu te admiro e te adoro. Tudo o que eu realizo e conquisto tem um pedaço teu e esta dissertação de mestrado não é exceção.

Um obrigado do fundo do coração à minha querida avó, com quem tanto aprendi e troquei experiências. Obrigada pela sua doçura, confiança e incentivo. Haja o que houver vou sempre guardá-la no meu coração. Agradeço, também, a toda a minha família e amigos que, embora indiretamente me acompanharam durante estes cinco anos de estudo, colaborando para que chegasse até aqui.

Não posso deixar de referir o quanto agradeço à Universidade Fernando Pessoa, a todos os professores e colegas com que contactei e que tanto contribuíram para o meu desenvolvimento pessoal e profissional. Um obrigado muito especial à orientadora deste projeto, Prof. Doutora Ana Catarina, por acreditar em mim, pelo seu incentivo, por todas as intervenções e correções que melhoraram esta dissertação de mestrado. Nunca me esquecerei de si. Muito obrigada por tudo!

Índice

1. Introdução	1
2. Doenças neurodegenerativas	4
2.1 Sistema nervoso: estrutura, constituição e funções	4
2.2 Sistema nervoso central (SNC) sistema nervoso periférico (SNP)	5
2.3 Senescência do SNC.....	7
2.4 Mecanismo da doença	7
2.5 Tratamento	12
Epilepsia.....	12
AVC	14
Tumores cerebrais	16
Doenças neurodegenerativas	17
Esclerose múltipla	17
Doença de Parkinson.....	20
Doença de Alzheimer	21
3. Tratamentos convencionais	24
3.1 Vantagens e limitações dos tratamentos convencionais	24
3.2 Novos sistemas terapêuticos.....	28
3.2.2 Sistemas coloidais	29
3.2.2.1 Lipossomas.....	30
3.2.2.2 Micelas	31
3.2.2.3 Dendrímeros	33
3.2.2.4 Fullerenos	34

3.2.2.5 Nanopartículas.....	35
3.2.2.5.1 Nanopartículas poliméricas	35
3.2.2.5.2 Nanopartículas lipídicas	36
3.2.2.6 Nanopartículas metálicas ou superparamagnéticas	38
4. Novas estratégias terapêuticas para o tratamento de doenças neurodegenerativas: Alzheimer e Parkinson	39
4.1 Novos sistemas terapêuticos utilizados na Doença de Alzheimer.....	39
4.2 Novos sistemas terapêuticos utilizados na doença de Parkinson	47
5. Conclusão.....	55
6. Referências bibliográficas	57

Índice de figuras

Figura 1: Vias moleculares que medeiam a degeneração axonal local.	9
Figura 2: Representação esquemática das duas barreiras fisiológicas do cérebro	25
Figura 3: Tipos de micropartículas: (a) microcápsula e (b) microesfera.....	29
Figura 4: Lipossomas com a superfície modificada.....	31
Figura 5: Micelas poliméricas	32
Figura 6: Estrutura típica de um dendrímero.....	33
Figura 7: Estrutura de um fulereno	34
Figura 8: Representação esquemática dos dois tipos de nanopartículas poliméricas.....	35
Figura 9: Ilustração das duas gerações de nanopartículas de lípidos sólidos: SLN e NLC.....	37
Figura 10: Nanopartícula magnética com polímeros inseridos na sua superfície	38

Índice de tabelas

Tabela 1: Exemplos de fármacos antiepiléticos utilizados na prática clínica.....	14
Tabela 2: Fármacos de primeira linha utilizados no tratamento da esclerose múltipla.....	19
Tabela 3: Exemplos de novos sistemas terapêuticos estudados para o diagnóstico e tratamento da doença de Alzheimer.	45
Tabela 4: Exemplos de novos sistemas terapêuticos estudados para o diagnóstico e tratamento da doença de Parkinson.	53

Abreviaturas

ADN – Ácido desoxirribonucleico

APs – Autofagossomas

AVC – Acidente Vascular Cerebral

BCL-2 – B-cell lymphoma protein 2

Bfgf – Fator básico de crescimento de fibroblastos

BHE – Barreira hematoencefálica

- COOH – Grupo carboxilo

CMC – Concentração micelar crítica

Fas – Recetor proteico da membrana pós- apoptótica

FASL – Proteína da membrana que se liga ao Fas

FDA – Food and Drug Administration

IL-6 – Interleucina- 6

LAT 1 – Grande transportador de aminoácidos do tipo 1

LCR – Líquido cefalorraquidiano

LP – Lipossomas contendo rivastigmina

MAB – Anticorpos monoclonais anti-transferrina

NLC – Nanostructured Lipid Carriers

- OH – Grupo hidroxilo

PACA – Poli (alquil cianoacrilato)

PBCA – Poli (butil cianoacrilato)

PEG – Polietilenoglicol

PLGA – Poli (ácido lactico-co-glicólico)

ROS – Espécies reativas de oxigénio

RNS – Radicais livres que contêm nitrogênio

-SH – Grupo tiol

SLN– Solid Lipid Nanoparticles

SNA – Sistema Nervoso Autônomo

SNC – Sistema Nervoso Central

SNP – Sistema Nervoso Periférico

SRE – Sistema reticuloendotelial

STL – *Solanum tuberosum*

TAC – Tomografia axial computadorizada

TNF – Fator de necrose tumoral

VPO25 – Fosfatidilglicerol que consegue interagir com as células apresentadoras de antigénio.

1. Introdução

O presente trabalho de revisão bibliográfica versa a importância da utilização de novos sistemas terapêuticos no tratamento de doenças do foro neurológico, nomeadamente, do Parkinson e do Alzheimer. O estudo ressalta o interesse de desenvolver formas inovadoras de administração de fármacos que atuem no sistema nervoso central (SNC), como uma alternativa às formas farmacêuticas convencionais.

Ao longo do tempo foram verificadas limitações no tratamento convencional de várias patologias, incluindo aquelas que ocorrem ao nível do SNC. Estas limitações despertaram curiosidade em muitos investigadores, que procuraram encontrar alternativas terapêuticas mais eficazes, seguras e que assegurem um tratamento efetivo. Neste contexto, surge a nanomedicina, que mais não é do que a aplicação ao nível clínico da nanotecnologia. Esta área da medicina está relacionada com a utilização de materiais nanoestruturados, com características específicas e dimensões reduzidas (1-100nm), que possuem duas aplicações principais de extrema importância, nomeadamente: o diagnóstico médico, através da imagiologia, e o direcionamento dos fármacos para o local da ação terapêutica (Wong *et al.*, 2012). Esta última aplicação constitui um enorme desafio para as moléculas que atuam ao nível do SNC. O cérebro é um órgão complexo, centro do SNC, com uma estrutura interna específica e compartimentada, responsável pela maioria das atividades fisiológicas, cognitivas e pelo controlo da homeostasia corporal. É constituído por duas membranas físicas, que impedem a mistura do fluido cerebral extracelular do cérebro com o sangue (Upadhyay, 2014). Uma dessas membranas é constituída por células do endotélio cerebral e designada por barreira hematoencefálica (BHE), sendo a principal responsável pela dificuldade de penetração da maioria dos fármacos utilizados para o tratamento de doenças neurológicas (Mikitsh e Chacko, 2014). Estima-se que mais de 98 % das moléculas com baixo peso molecular e 100% das que possuem elevado peso molecular (péptidos e proteínas, por exemplo) não atravessam a BHE (Denora *et al.*, 2009).

Nas últimas décadas, têm sido desenvolvidas novas abordagens terapêuticas no sentido de aumentar a penetração de fármacos no SNC, como por exemplo, o recurso a alterações químicas nas moléculas de fármaco (transformando-as em pró-fármacos) e principalmente a utilização de nanossistemas (Patel *et al.*, 2013).

Lipossomas, micelas, microemulsões, nanoemulsões, nanopartículas, dendrímeros e nanocristais de fármacos são alguns exemplos de nanossistemas que, ao possibilitarem a incorporação do fármaco no seu interior ou acoplado à sua superfície, auxiliam na sua passagem pela BHE, libertando-o no local pretendido, sem que antes seja biodegradado (Goyal *et al.*, 2014).

O Alzheimer e o Parkinson são as duas doenças neurodegenerativas mais prevalentes em todo o mundo, cujo principal fator etiológico é a idade, podendo ambas levar à demência (Zolezzi *et al.*, 2014). Hoje em dia, com o avanço da nanotecnologia no campo clínico, é possível utilizar alguns nanossistemas para incorporar fármacos utilizados no tratamento destas doenças, facilitando a sua ação terapêutica.

O objetivo geral deste trabalho é estudar os diversos novos sistemas terapêuticos que podem ser utilizadas no tratamento de doenças do foro neurológico, com especial ênfase para a doença de Alzheimer e de Parkinson. Os objetivos específicos são os seguintes:

- ✓ Apresentar uma breve descrição do sistema neurológico, dando particular importância às funções fisiológicas e protetoras da BHE, bem como ao obstáculo que apresenta para a entrada de fármacos no SNC;
- ✓ Descrever as principais doenças neurodegenerativas, quanto à sua fisiopatologia, fatores de risco e tratamentos utilizados na atualidade;
- ✓ Analisar os diversos novos sistemas terapêuticos, definindo-as e efetuando um resumo das suas características e possíveis aplicações;
- ✓ Perceber as principais vantagens da sua utilização, comparando-as com as formas farmacêuticas convencionais;
- ✓ Comentar as principais limitações destas formas inovadoras e a razão da sua aplicação clínica ainda ser reduzida;
- ✓ Demonstrar a prevalência do Alzheimer e do Parkinson a nível mundial, contextualizando a necessidade do emprego de formas farmacêuticas inovadoras para o seu tratamento, com capacidade terapêutica superior às formas farmacêuticas clássicas;
- ✓ Perspetivas futuras da aplicação de novos sistemas terapêuticos na doença de Alzheimer e Parkinson.

Para a realização deste trabalho recorreu-se, sobretudo, à pesquisa de artigos científicos publicados em revistas internacionais, através de motores de busca on-line, como o “PubMed”, “Science Direct” e “Google académico”. Também foram consultados alguns livros, por forma a reunir a maior informação possível.

Assim, a motivação para a escolha deste tema deve-se à perceção de que é necessário desenvolver e estudar novos sistemas terapêuticos, que permitam ultrapassar alguns dos obstáculos apresentados pelas formas convencionais, podendo ser usadas na prevenção e no tratamento de doenças neurológicas, especificamente do Alzheimer e do Parkinson.

2. Doenças neurodegenerativas

2.1 Sistema nervoso: estrutura, constituição e funções

São inúmeras as doenças do SNC que afetam cada vez mais a sociedade moderna, como os acidentes vasculares cerebrais (AVC), a epilepsia, tumores cerebrais e doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer (DA), a doença de Parkinson (PA) e a esclerose múltipla, que são caracterizadas por sintomas que afetam o movimento, a memória e provocam demência, devido à perda gradual de neurónios (Nowacek *et al.*, 2009). Infelizmente ainda não são conhecidos métodos eficazes e seguros quer para o diagnóstico, quer para o tratamento das doenças do SNC, principalmente devido às suas características anatómicas e fisiológicas (Mikitsh e Chacko, 2014).

O cérebro é o órgão mais volumoso do encéfalo, sendo altamente sensível e frágil e, por isso, necessita de um aporte suficiente de nutrientes e de gases (Upadhyay, 2014). Localiza-se na superfície interna do crânio, possui milhões de neurónios e uma estrutura bastante complexa. Encontra-se dividido em duas metades, designadas por hemisférios, separadas por uma fenda longitudinal (Seeley *et al.*, 2005). A superfície externa desta fenda é uma camada cinzenta, designada por córtex cerebral. Por sua vez, o córtex cerebral possui fissuras mais profundas, também denominadas de sulcos, que dividem os dois hemisférios em quatro lobos (Ferro e Pimentel, 2013). A designação de cada lobo varia de acordo com o osso do crânio que o reveste. Assim, existe o lobo frontal, o occipital, o temporal e o parietal. Pode, ainda, encontrar-se uma substância branca, formada por fibras nervosas revestidas de mielina e axónios, provenientes de neurónios do córtex ou que chegam até estes (Seeley *et al.*, 2005).

O cérebro é, portanto, o órgão mais importante do sistema nervoso, responsável pela manutenção e funcionamento de todos os órgãos do nosso organismo e, por isso, de todos os sistemas de que estes fazem parte, como, por exemplo, o sistema cardiovascular, pulmonar, digestivo e urinário (Mikitsh e Chacko, 2014).

O sistema nervoso está, desta forma, envolvido na generalidade das funções orgânicas vitais, tais como:

- Controlo da homeostasia corporal: através de atividades reguladoras, coordenadoras e auxiliadoras sobre os triliões de células do organismo humano, que funcionam dependentemente umas das outras, apesar de possuírem funções independentes. O sistema nervoso pode inibir ou estimular o seu funcionamento, auxiliando-as a manter a homeostasia (Seeley *et al.*, 2005).
- Existência de atividades mentais e capacidade cognitiva: é assegurada pelo encéfalo, centro das atividades mentais, como a consciência, o pensamento, a memória e as emoções. Permitem ao ser humano ter consciência de si mesmo e do mundo à sua volta, decidir e monitorizar os seus comportamentos (Upadhyay, 2014).
- Monitorização e informação sensorial: estímulos externos e internos, tais como o tato, o olfato, o paladar, a temperatura, o som e o pH dos fluidos corporais, assim como a pressão arterial são assegurados pelo sistema nervoso (Longo *et al.*, 2013).
- Integração: a medula espinhal juntamente com o encéfalo conseguem computorizar a informação sensorial, traduzindo-a numa resposta (Seeley *et al.*, 2005).
- Adequação da contração muscular e controlo da atividade glandular: embora o SNC não esteja diretamente envolvido na contração e no relaxamento muscular, pode tornar estes processos mais ou menos rápidos. A nível glandular tem a capacidade de controlar as secreções de inúmeras glândulas, como as sudoríparas e as do sistema digestivo (Longo *et al.*, 2013).

2.2 Sistema nervoso central (SNC) sistema nervoso periférico (SNP)

Embora o organismo humano possua apenas um sistema nervoso, este encontra-se subdividido no SNC, constituído pelo encéfalo e pela medula espinhal, que comunica com o sistema nervoso periférico (SNP), composto pelos nervos cranianos e raquidianos, através dos seus recetores sensoriais, gânglios e plexos (Longo *et al.*, 2013). O SNP pode, ainda, repartir-se em sistema nervoso somático ou voluntário e sistema nervoso autónomo (SNA) ou visceral. O sistema nervoso somático relaciona o ser humano com o ambiente que o envolve, sendo responsável por ações voluntárias, nomeadamente pela contração dos músculos esqueléticos (Ferry *et al.*, 2014).

Reagindo a estímulos externos, tem a capacidade de processar a informação recebida e gerar potenciais de ação entre o SNC e os músculos esqueléticos, através de sinapses (i.e. junções entre duas células nervosas ou entre uma célula nervosa e uma célula músculo esquelética), levando à sua contração (Mancia e Grassi, 2014).

O sistema nervoso autónomo regula o ambiente interno do corpo, independentemente da vontade do ser humano, controlando o funcionamento de vários sistemas, como o sistema digestivo, cardiovascular e endócrino. Possui feixes que transmitem os potenciais de ação do SNC a glândulas e músculos, como o cardíaco e o músculo liso (Seeley *et al.*, 2005).

O sistema nervoso simpático e parassimpático são subdivisões do sistema nervoso autónomo, que se distinguem pela estrutura que possuem e funções que desempenham. Relativamente às suas funções, de um modo geral, o sistema nervoso simpático está envolvido na adaptação do corpo a ações que movimentam energia, permitindo responder a situações de perigo (Ferry *et al.*, 2014). É o responsável pelo estado de alerta que se desencadeia perante uma situação de *stress*. Quando é ativado desperta o sistema nervoso autónomo parassimpático. Este estimula o relaxamento, assegura o estado de repouso e funções vegetativas, como, por exemplo, a digestão de alimentos (Mancia e Grassi, 2014).

A principal diferença entre eles a nível estrutural está relacionada com secreções de hormonas distintas. Enquanto no SNA simpático os neurónios pós-ganglionares segregam noradrenalina (neurónios adrenérgicos), no SNA parassimpático é libertada acetilcolina pelos neurónios pós-ganglionares (Mancia e Grassi, 2014). A adrenalina produz uma resposta de “luta ou fuga” em situações de *stress*, tornando-se a sua produção aumentada pela ligação que as fibras adrenérgicas promovem entre a glândula supra-renal e o SNC. Assim se entende a função antagónica desempenhada por estes dois sistemas, uma vez que a acetilcolina e a noradrenalina inibem e excitam, respetivamente, funções fisiológicas, sendo mantido um equilíbrio entre as ações que desencadeiam (Longo *et al.*, 2013).

Como são diversas as doenças do SNC que afetam uma grande parte da população a nível mundial, contribuindo para o aumento da mortalidade e morbilidade, torna-se essencial conhecê-lo, estudá-lo e conservá-lo no estado mais funcional possível, assegurando a existência de tratamentos acessíveis e eficazes para possíveis patologias que possam surgir (Viscomi e Molinari, 2014).

2.3 Senescência do SNC

Ao longo do tempo, ocorrem mudanças acentuadas no interior do organismo, que resultam na perda de funções vitais para o seu correto funcionamento. O sistema nervoso passa por um processo de senescência que se traduz, de uma forma muito geral, pela perda do número de neurónios sensoriais e motores e, conseqüentemente das atividades em que estes se envolvem (Bugã *et al.*, 2011). Os reflexos são comprometidos pela lentidão com que se desenvolve e se gera um potencial de ação e a capacidade funcional dos neurónios decresce, devido às seguintes situações (Seeley *et al.*, 2005):

- Alterações estruturais nos neurónios restantes;
- Diminuição do peso e tamanho do encéfalo;
- Rigidez da membrana neuronal;
- Estrutura irregular do retículo endoplasmático, com desenvolvimento de emaranhados neurofibrilares nas células;
- Formação de placas amilóides nas sinapses.

As alterações da função encefálica incluem o decréscimo dos movimentos voluntários, das sensações conscientes dos reflexos, da memória e do sono (de Oliveira *et al.*, 2007). A memória a curto prazo é, por norma, a primeira a modificar-se, verificando-se a sua redução significativa a partir dos 70 anos de idade. Contudo, estas alterações variam de indivíduo para indivíduo (Seeley *et al.*, 2005).

2.4 Mecanismo da doença

A complexidade dos mecanismos que desencadeiam a degeneração das células do SNC tem constituído um desafio para muitos investigadores. Estes procuraram desenvolver novas abordagens terapêuticas para aprofundar os seus conhecimentos nesta área, criando novas terapias para o tratamento de doenças provocadas pela degeneração do SNC.

Atualmente, os investigadores de neurociência cognitiva já dispõem de alguns métodos que lhes permitem estudar a natureza de uma patologia cerebral com maior rigor, dado que as suas abordagens passam sempre pela utilização de vários métodos, colmatando, desta forma, as falhas que alguns possam apresentar (Bartolomeo, 2011).

Há alguns anos atrás (anos 90), os métodos utilizados para avaliar um quadro clínico associado a uma lesão no SNC, baseavam-se no estudo da relação entre a estrutura e a função de uma única zona do córtex (Viscomi e Molinari, 2014). Apesar de este método conseguir identificar lesões causadoras de patologias, como não estendia a sua análise a mais do que uma zona do cérebro, os resultados não eram 100% fiáveis. Tal acontecia, porque muitas lesões, incluindo tumores cerebrais, não ocorriam num local específico do córtex (“hot spot”) podendo danificar regiões distintas da analisada, embora com ela interligada, devendo ser consideradas para um correto diagnóstico e posterior tratamento (Bartolomeo, 2011).

Devido à fraqueza e ineficácia do método anterior para identificar e processar múltiplas lesões, foram desenvolvidos novos métodos. A maioria defende que as lesões cerebrais derivam da comunicação entre regiões corticais diferentes, através de redes de larga escala que as ligam (Viscomi e Molinari, 2014). O aparecimento de patologias depende não só dos efeitos causados nas regiões do córtex afetadas, como também das zonas interligadas com essas, mas que estão anatomicamente intactas (Ruan *et al.*, 2014). Esta nova perspetiva permitiu alargar horizontes para uma melhor compreensão do aparecimento de lesões no SNC, levando ao desenvolvimento de técnicas de diagnóstico e reabilitação de pacientes mais avançadas, como a neuroimagem com tensor de difusão e estudos de conectividade de ressonância magnética (Bartolomeo, 2011).

Atualmente é sabido que a degeneração do SNC e o surgimento de doenças neurodegenerativas envolve vários fenómenos que afetam a sobrevivência neuronal, como a apoptose, a autofagia, o dano oxidativo e a inflamação (Viscomi e Molinari, 2014).

A apoptose, ou morte celular programada, consiste numa sucessão de eventos estruturais, biológicos e bioquímicos que promovem alterações morfológicas e funcionais nas células afetadas até à sua morte.

Existem duas vias apoptóticas (Figura 1). A via extrínseca envolve recetores de morte. A ligação de um recetor de morte, pertencente à família do recetor do TNF (fator de necrose tumoral), como o recetor proteico da membrana pró-apoptótica (Fas) ao respetivo ligando, que é uma proteína da membrana que se liga ao Fas (FASL), ativa uma cascata de reações intracelulares de apoptose, que terminam na ativação da pro-caspase 8 em caspase 8, que leva as caspases efetoras (3, 6 e 7) a iniciarem a apoptose (Voltarelli *et al.*, 2008). A via intrínseca, por sua vez, requer o envolvimento da mitocôndria e está relacionada com a maioria das apoptoses. É ativada, por exemplo, por lesões no ADN (toxinas, radiação, radicais livres) e números inaceitáveis de proteínas “misfolded” (i.e., mal dobradas), formadas por alterações na sequência de aminoácidos que as codificam ou por modificações na sua configuração espacial tridimensional. Ao dobrar-se, a proteína adquire uma configuração espacial tridimensional, que a torna funcional. Assim, a deformação proteica torna as proteínas inativas e menos solúveis, podendo precipitar e formar emaranhados proteicos ou placas insolúveis, que se depositam e são patogénicas (Anazetti e Melo, 2007). A permeabilidade da mitocôndria determina se a célula entra ou não em apoptose. As proteínas da família BCL-2 (B-cell lymphoma protein 2) são proteínas intracitoplasmáticas que alteram a permeabilidade da membrana da mitocôndria, sucedendo-se a libertação de enzimas pró-apoptóticas do interior da mitocôndria, como o citocromo, capaz de ativar a caspase 9, que ativa as caspases efetoras, conduzindo à apoptose (Finsterer *et al.*, 2012).

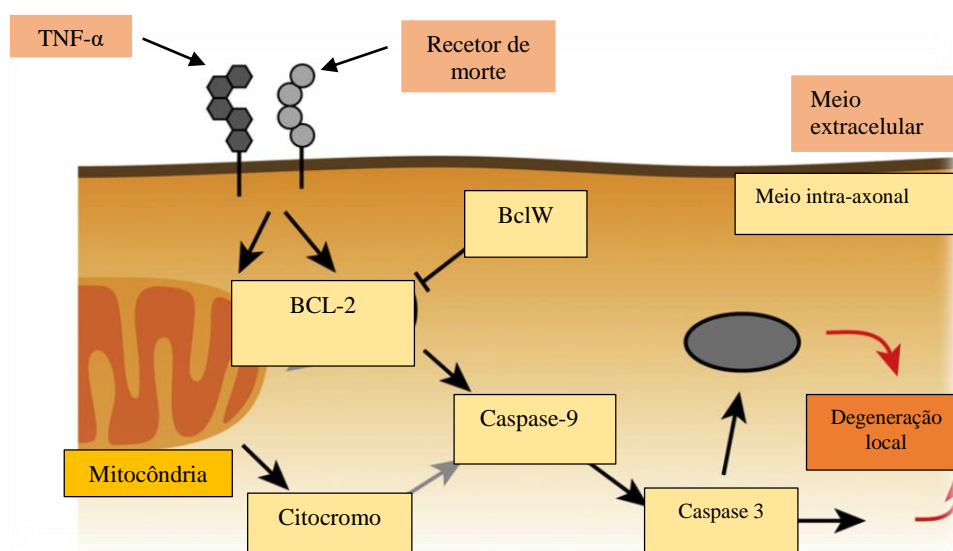


Figura 1: Vias moleculares que medeiam a degeneração axonal local. Ativação de membros da família do fator de necrose tumoral do recetor (TNF) e do de recetor de morte, desencadeiam a libertação da BCL-2 da mitocôndria, que ativa caspase 9 que inicia e as caspases efetoras 3 e 6. O BCLW (proteína que promove a sobrevivência neuronal) pode inibir o BCL-2 (Adaptado de Neukomm e Freeman, 2014).

Outro dos mecanismos causadores da neurodegeneração está relacionado com a desregulação dos mecanismos envolvidos na autofagia, que é um processo intracelular das células eucariotas, fundamental para a sua sobrevivência (Giorgio, 2014). Durante a autofagia, o lisossoma aproxima-se das estruturas a serem eliminadas, que ficam envolvidas por uma membrana, formando-se vesículas fagocíticas (Viscomi e Molinari, 2014). Estas reúnem no seu interior, componentes citoplasmáticos e organelos não funcionais, transformando-se em autofagossomas (APs). Os APs originam autolisossomas, quando se fundem com lisossomas, ocorrendo, a degradação dos componentes fagocitados por hidrolases lisossomais. Este mecanismo catabólico permite às células manter a sua homeostasia e reciclar proteínas, protegendo-se de quantidades de nutrientes insuficientes (Finsterer *et al.*, 2012).

Porém, quando alguma destas etapas é inibida, a autofagia pode atuar como um mecanismo pró-apoptótico, tal como comprovam estudos efetuados utilizando células tumorais. Nestes estudos, perante uma inibição artificial de fornecimento de nutrientes às células, bem como do processo de autofagia, verificou-se apoptose celular (Viscomi e Molinari, 2014).

Uma das principais causas do aparecimento de doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer e de Parkinson, é a morte prematura de células no córtex cerebral. Esta pode ser explicada pela presença do péptido β -amiloide, no caso de pacientes com Alzheimer (Zolezzi *et al.*, 2014). Verifica-se a deposição de várias placas com um núcleo de substância amiloide, nomeadamente o péptido β -amiloide, capaz de iniciar o processo apoptótico por ativação de caspases efetoras (Ferro e Pimentel, 2013).

Os danos oxidativos ocorrem, essencialmente, devido a disfunções do funcionamento mitocondrial e pensa-se que estejam envolvidos na patogénese de doenças neurológicas, dada a suscetibilidade do cérebro para a ocorrência de processos oxidativos (de Oliveira *et al.*, 2007). Essa suscetibilidade pode ser explicada por vários fenómenos, de entre os quais se destacam (Teixeira *et al.*, 2014): a condução de um estímulo nervoso que gera radicais livres; o tamanho considerável que requer uma oxidação superior à dos restantes órgãos; os níveis baixos de antioxidantes, capazes de neutralizar radicais livres e a limitada capacidade de autorregeneração da maioria das células cerebrais, pelo que qualquer alteração causada pelo *stress* oxidativo não pode ser revertida.

A mitocôndria é um organelo que possui no seu interior proteínas e enzimas em elevado número e variedade. Perante uma situação de *stress* oxidativo, algumas dessas enzimas conseguem impedir a produção ou neutralizar radicais livres e espécies reativas de oxigênio (ROS), que contribuem para a morte de células neuronais, convertendo radicais superóxidos em oxigênio e peróxido de hidrogênio, como a superóxido dismutase de manganês (Viscomi e Molinari, 2014). Contudo, esta proteção nem sempre é garantida pela mitocôndria, o que permite aos radicais livres atacarem os ácidos gordos polinsaturados das membranas celulares, sendo gerada uma sucessão de eventos que promovem a peroxidação lipídica (Teixeira *et al.*, 2014).

Para além dos ROS, também existem radicais que contêm nitrogênio (RNS), sendo o principal e mais perigoso radical desta família o óxido nítrico (NO•). O peroxinitrito é o principal intermediário dos seus efeitos tóxicos que envolvem reações oxidativas sobre lípidos, ácido desoxirribonucleico (ADN) e proteínas, com conseqüente morte celular (Viscomi e Molinari, 2014).

Sabendo que a apoptose pode ser desencadeada por processos de *stress* oxidativo, vários investigadores averiguaram que a doença de Parkinson, na qual ocorre uma diminuição gradual do número de células que produzem dopamina, pode ser causada por elevados níveis de apoptose destas células. Tal é considerado dada a rapidez com que os doentes parkinsónicos perdem estas células, relativamente a indivíduos saudáveis (Connolly e Lang, 2014).

Dependendo do contexto em que ocorre, a inflamação pode dizer-se benéfica ou estimuladora de danos nas células cerebrais, originando doenças neurológicas, como as neurodegenerativas. A sua dupla ação sobre as células do cérebro está relacionada com a dinâmica dos mediadores da resposta inflamatória, que segregam quimiocina e citocinas pró-inflamatórias, nomeadamente com os astrócitos e células da glia, mais especificamente a microglia (Heffernan *et al.*, 2012).

Segundo o modelo HCb, procede-se à remoção de um dos hemisférios cerebrais (direto ou esquerdo) para o estudo da zona lesionada e intata desse hemisfério. Como nos humanos, a maioria das lesões cerebrais são focais, este modelo é aplicado para examinar a degeneração cerebral. Assim, perante uma lesão cerebral ou espinal primária, geralmente a ativação dos astrócitos no local da lesão confere proteção, impedindo que o dano se propague para outras regiões, reconstituindo a BHE e prevenindo a degeneração neuronal (Viscomi e Molinari, 2014). O mesmo não sucede quando a microglia é ativada invés dos astrócitos, uma vez que ocorre estimulação da produção de mediadores neurotóxicos, como a interleucina-1 β , o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), óxido nítrico e ROS, que conduzem a um dano neuronal progressivo (de Oliveira *et al.*, 2007).

Em danos remotos, as funções dos astrócitos e da microglia invertem-se, isto é, a ativação dos astrócitos promove a degeneração cerebral remota, enquanto a ativação da microglia inibe esse processo (Viscomi e Molinari, 2014).

Devido às diferenças apresentadas para o dano cerebral local e remoto, não é possível generalizar o protótipo do modelo HCb, mas o duplo papel da inflamação deve ser considerado central na sobrevivência ou morte celular.

2.5 Tratamento

Com o aumento da esperança média de vida da população, as doenças que afetam o SNC têm aumentado a sua prevalência na sociedade, constituindo um grande problema de saúde pública.

Epilepsia

A epilepsia é uma doença cerebral que compreende um grande número de distúrbios neurológicos, podendo ser caracterizada como uma predisposição constante para a ocorrência de crises epiléticas, que podem ser generalizadas (a consciência é alterada), focais (com ou sem perturbações da consciência) e inclassificáveis (Cervia e Bagnoli, 2007).

Relativamente à sua etiologia, cerca de 45% dos casos da epilepsia são genéticos e reúnem a maioria das crises epiléticas generalizadas; mais ou menos 40% possuem causas estruturais ou metabólicas, estando associadas a uma doença metabólica ou estrutural e integram grande parte das crises focais. Em 15% dos casos, a sua etiologia não é conhecida (Ferro e Pimentel, 2013).

A maioria dos tratamentos farmacológicos da epilepsia destinam-se apenas a tratar os sintomas neurológicos, psicológicos, cognitivos e sociais a ela associados, não sendo totalmente eficazes (Longo *et al.*, 2013). Por esta razão, e devido à elevada incidência de epilepsia, tem sido feito um esforço para o desenvolvimento de novos fármacos com mecanismos de ação aperfeiçoados, relativamente aos dos fármacos convencionais (Cervia e Bagnoli, 2007).

Os fármacos antiepiléticos existentes na prática clínica atuam sobre os desequilíbrios excitatórios e inibitórios, que ocorrem na geração de impulsos elétricos entre duas células neuronais. Este processo depende do correto funcionamento do potencial da membrana, bem como das bombas e canais iónicos, como os canais de sódio dependentes de voltagem. Existem duas famílias de antiepiléticos, nomeadamente os de primeira geração e os de nova geração, que se encontram apresentados na Tabela 1. A grande diferença entre os antiepiléticos de primeira geração e os de nova geração relaciona-se com os seus perfis farmacocinéticos e farmacodinâmicos, que tornam os antiepiléticos de segunda geração mais seguros e eficazes, já que os efeitos adversos a eles associados são irrelevantes (Ferro e Pimentel, 2013).

Tabela 1: Exemplos de fármacos antiepiléticos utilizados na prática clínica (Ferro e Pimentel, 2013).

Primeira geração	<ul style="list-style-type: none">○ Fenobarbital;○ Clonazepam, clobazam;○ Primidona;○ Carbamazepina;○ Fenitoína;○ Valproato.
Nova geração	<ul style="list-style-type: none">○ Vigabatrina;○ Gabapentina;○ Felbamato;○ Rufinamida.○ Lamotrignina;○ Topiramato;○ Oxcarbazepina;○ Levetiracetam;○ Pregabalina;○ Acetato de eslicarbazepina.

AVC

O AVC é uma das patologias mais comuns que afetam o SNC e representa atualmente um problema de saúde pública em Portugal (Ferro e Pimentel, 2013).

Para além da elevada taxa de mortalidade a que está associado, o AVC pode causar danos cerebrais irreversíveis numa dada zona do encéfalo, causando a perda de funções dessa mesma zona. Ao nível neuropatológico, verificam-se enfartes necróticos acompanhados de gliose inflamatória (Nowacek *et al.*, 2009). As principais causas que levam ao seu aparecimento resultam de uma interrupção do fluxo sanguíneo para o parênquima cerebral, devido a uma oclusão trombótica ou embólica (Mozaffarian *et al.*, 2015).

Como é uma doença súbita, os sinais que a denunciam devem ser reconhecidos ou divulgados para o conhecimento de toda a população. Perda de força e /ou paralisia no

membro esquerdo; atraso ou dificuldade em falar; fraqueza facial (boca torta ou olho caído); confusão; visão turva e dores de cabeça muito fortes são alguns dos sintomas iniciais, que constituem um sinal de alerta para uma deslocação às urgências hospitalares (Ferro e Pimentel, 2013).

Relativamente aos fatores de risco a ela associados podem-se mencionar os fatores não modificáveis, tais como idade, género e etnia, e os modificáveis, tais como hipertensão arterial, existência de doenças cardíacas, aterosclerose, diabetes mellitus e hábitos como a ingestão de álcool, tabagismo e sedentarismo (Ntaios *et al.*, 2015).

O AVC pode ser de vários tipos, sendo possível distingui-los através da realização de uma tomografia axial computadorizada (TAC). Assim, o AVC pode ser isquémico (quando a TAC demonstra uma hiperdensidade em T1) e hemorrágico (quando a TAC demonstra uma hipodensidade em T1). O quadro clínico caracteriza-se pela manifestação de vômitos, cefaleias, pressão arterial elevada (por exemplo, 120-200mmHg) e alteração do estado de alerta (Mehndiratta *et al.*, 2015).

O acidente isquémico transitório ocorre quando os sintomas de um AVC isquémico são passageiros, desaparecendo, de um modo geral, após 24 horas. Este tipo de AVC é causado pela ocorrência de agregação plaquetária, que se traduz no aparecimento de trombos de reduzidas dimensões, que impedem a circulação sanguínea até ao cérebro ou por hipoperfusão (Nowacek *et al.*, 2009).

O tratamento de todos os tipos de AVC visa, sempre, o restabelecimento da circulação sanguínea na região do encéfalo afetada (Nowacek *et al.*, 2009). No AVC isquémico tal é possível através de trombólise por via endovenosa com ativador do plasminogénio tecidual, durante um período de quatro horas e meia após o início dos sintomas. Fora deste intervalo esta intervenção torna-se perigosa. A terapia farmacológica inclui a administração de antitrombóticos (antiagregantes plaquetários, como o ácido acetilsalicílico com o clopidogrel), estatinas e anti-hipertensores (Longo *et al.*, 2013).

No caso de AVC hemorrágico, o tratamento passa pela administração de estatinas e anti-hipertensores. Frequentemente é necessária uma intervenção cirúrgica, pois surgem hematomas de reduzidas dimensões no cerebelo e hematomas muito extensos nos lobos cerebrais, sendo necessária a sua evacuação. Alguns hematomas que provocam hidrocefalia sintomática podem ser tratados por derivação ventricular externa (Mozaffarian *et al.*, 2015).

A repetição da rutura de um aneurisma pode desencadear um AVC hemorrágico, ocorrendo uma hemorragia a nível subaracnoide. Nestes casos, é fundamental a administração de nimodipina, expansores do plasma e hidratação (Ferro e Pimentel, 2013).

Tumores cerebrais

Os tumores cerebrais incluem uma ampla variedade de tumores metastáticos, que afetam a medula espinal e o cérebro, surgindo a partir de células tumorais da periferia e de tumores primários do cérebro e da medula espinal, com origem nas células de suporte do SNC (Sarin, 2010).

Estes tumores podem ser divididos, de acordo com a sua origem tecidual, em tumores de nervos cranianos, tumores das meninges, tumores de origem neuroepitelial, tumores do tronco cerebral e tumores das células germinativas (Bhujbal *et al.*, 2014).

Os gliomas são os tumores malignos de origem neuroepitelial mais comuns do SNC constituindo, a seguir ao AVC, uma das principais causas de morte por doença neurológica nos adultos (Iqbal *et al.*, 2015).

São quatro os principais tipos de gliomas, nomeadamente os astrocitomas, oligodendrogliomas, ependimomas e gliomas mistos (oligoastrocitomas), que podem ser classificados histopatologicamente como tumores de baixo grau ou de alto grau (Ferro e Pimentel, 2013).

Os astrocitomas podem ser divididos, por ordem crescente de anaplasia, em pilocíticos (grau I), difusos (grau II), anaplásicos (grau III) e glioblastomas multiformes (grau IV). Esta classificação está relacionada com a existência de atividade mitótica, atipia nuclear, proliferação microvascular e necrose. Os oligodendrogliomas são caracterizados por núcleos grandes e redondos regulares, por um padrão vascular em rede, presença de microquistos, assim como aglomeração subpial e podem ser tumores de baixo grau (grau II) e anaplásicos (grau III). Os ependimomas, por sua vez, podem ser de grau I (subependimomas e ependimomas mixopapilares), grau II, também designados por ependimomas clássicos e grau III, como os ependimomas anaplásicos (Chintagumpala e Gajjar, 2015). Quase todos estes tumores transitam para formas fatais, com a exceção dos astrocitomas pilocíticos e os sintomas associados incluem cefaleias, convulsões, alterações mentais e neurológicas focais, sendo as regiões temporais e frontais as mais afetadas (Ferro e Pimentel, 2013).

Para todos estes tipos de tumores cerebrais, o tratamento mais eficaz é a cirurgia, bem como a radioterapia e quimioterapia. As principais vantagens da cirurgia consistem no desaparecimento ou atenuação imediata dos sintomas e na possibilidade de se efetuar estudos moleculares, histológicos e patológicos para um melhor prognóstico (Bhujbal *et al.*, 2014).

Contudo, e apesar da interrupção na BHE provocada por esta patologia, os fármacos tradicionais, como corticoides e antiepiléticos, são incapazes de atravessar essa barreira em quantidades ditas terapêuticas. Por este motivo, têm sido desenvolvidos novos sistemas terapêuticos, como lipossomas, micelas e nanopartículas aptas para veicular estes fármacos através da BHE, facilitando o acesso ao interior do parênquima cerebral (Upadhyay, 2014).

Doenças neurodegenerativas

Esclerose múltipla

A esclerose múltipla é uma doença inflamatória crónica do SNC, que se caracteriza pela desmielinização autoimune dos axónios e pelo aparecimento de placas. Estas surgem em zonas específicas dos hemisférios cerebrais, nomeadamente no cerebelo, tronco cerebral, medula espinal e na substância branca periventricular (Nowacek *et al.*, 2009).

A sua etiologia ainda não se encontra totalmente esclarecida, mas estudos realizados ao longo de vários anos sugerem que se trata de uma doença de caráter imunológico, que produz inflamação, desmielinização e, conseqüentemente, perda neuronal. Fatores ambientais e genéticos parecem estar envolvidos nas alterações da resposta imunológica das células T, que se tornam autoreativas, atingindo os determinantes antigénicos da mielina do SNC (Wingerchuk e Carter, 2014).

A instabilidade com que os surtos evoluem para formas mais severas, pode ser explicada pela existência de lesões muito dispersas na substância branca. Desta forma, numa fase inicial da doença, os doentes padecem de surtos acompanhados por parestesia, défices intestinais e urinários, fadiga, perda de força e equilíbrio, espasmos musculares, dores severas e crónicas, acuidade visual diminuída e défices cognitivos (Heffernan *et al.*, 2012.). Estes sintomas surgem devido à incapacidade de comunicação das células cerebrais com a medula espinal. Entre os surtos, os sintomas podem desaparecer totalmente e as funções neurológicas têm tendência a estabelecer-se (Nowacek *et al.*, 2009). Aproximadamente em 80% dos casos verifica-se um episódio em cada dois anos, que surge durante vários dias, com o estabelecimento dos sintomas por volta da quarta semana. Após este período, ocorre uma regressão dos sintomas (fase recorrente da esclerose múltipla). Tal fato explica a dificuldade em diagnosticar e estabelecer o prognóstico da doença (Leist *et al.*, 2014).

Com o passar dos anos, a doença entra numa fase progressiva (forma secundária progressiva), com surtos agudos que conduzem à acumulação e agravamento dos danos no SNC, que se traduzem em incapacidades motoras e neurológicas (Heffernan *et al.*, 2012.).

Em alguns casos, que ocorrem com maior incidência em doentes com 40 a 50 anos de idade, a progressão da doença é contínua. Nestas situações verifica-se uma maior perda de células neuronais, relativamente a lesões inflamatórias e à desmielinização dos axónios presentes na substância branca (Nowacek *et al.*, 2009).

De todas as formas da doença, a medular é a mais frequente, caracterizando-se pela perda gradual das funções motoras nos membros superiores e inferiores e pela incapacidade em realizar movimentos voluntários em qualquer parte do corpo (Mansueto *et al.*, 2012).

No tratamento dos surtos são utilizados corticoides (metilprednisolona) administrados por via endovenosa. Os tratamentos farmacológicos que devem ser aplicados após o aparecimento do primeiro surto incluem fármacos, designados por fármacos de primeira linha, que constam na Tabela 2 (Ferro e Pimentel, 2013).

Tabela 2: Fármacos de primeira linha utilizados no tratamento da esclerose múltipla (Ferro e Pimentel, 2013).

Fármacos de primeira linha	Ação terapêutica
Interferão beta (IFN- β)	Reduz a frequência e severidade dos surtos; Administração subcutânea diária.
Fingolimod	Primeiro tratamento oral; Impede que as células T autoreativas deixem os gânglios linfáticos, impossibilitando o surgimento de surtos; Molécula muito lipofílica, que atravessa a BHE e assume uma função neuroprotetora.
Mitoxantrona	Imunossupressor e antimitótico, eficaz na forma progressiva secundária da doença e em caso de recidivas.

Os meios de tratamento da esclerose múltipla têm evoluído com a utilização da nanotecnologia no campo da imagiologia e permitido a detecção precoce da doença, através da localização da inflamação e neuroproteção (Leist *et al.*, 2014; Wingerchuk e Carter, 2014).

Doença de Parkinson

Em 1917, o médico londrino James Parkinson descobriu a doença de Parkinson, durante um ensaio clínico (Nowacek *et al.*, 2009). Patologicamente, esta doença é caracterizada pela perda de neurónios dopaminérgicos no interior da substância cinzenta (Ferro e Pimentel, 2013). A sua etiologia ainda não se encontra totalmente esclarecida, mas parece estar relacionada com vários fatores que atuam conjuntamente, tais como (Nowacek *et al.*, 2009): ambientais, relacionados com a exposição a agentes tóxicos; neuroinflamação; ativação imunológica das células da glia; alterações genéticas e deformação proteica, causada por radicais livres envolvidos no *stress* oxidativo e concentrações anormais de iões no cérebro, que promovem alterações na sequência de genes que codifica a proteína α -sinucleína (PARK1). Como estas alterações ocorrem durante a síntese proteica, formam-se proteínas com isoformas diferentes das normais, inativas e menos solúveis, que se acumulam em corpos de Lewy nos neurónios, originando emaranhados neurofibrilares e placas proteicas insolúveis (Prusiner, 2012).

No início da doença surgem sintomas como flutuações motoras, hipersudorese, alterações do sono, depressão, discinesias, seborreia, hipotensão ortostática, alterações cognitivas, amimia ou falta de expressão facial e bradicinesia ou diminuição da velocidade e magnitude na realização de movimentos. (Nowacek *et al.*, 2009). A bradicinesia está associada à rigidez, que provoca dificuldade em realizar movimentos passivos, tremores, mais frequentes nos membros superiores, e instabilidade postural, que explica a falta de equilíbrio e quedas recorrentes nos doentes com Parkinson (da Silva Correia *et al.*, 2013)

Como é uma doença neurodegenerativa e de carácter progressivo, ao longo do tempo os sintomas vão-se agravando, devido à acumulação de danos neuronais e surgimento de interrupções na BHE, causados por componentes neurotóxicos. Estes compostos são libertados após ativação das células da glia. A perda de integridade da BHE gera uma corrente de linfócitos para o cérebro, que potenciam e prolongam reações inflamatórias (Dzamko *et al.*, 2014).

O fármaco mais utilizado no tratamento dos sintomas da doença de Parkinson é a levodopa, um precursor que é convertido em dopamina a nível cerebral, normalmente prescrita em associação com carbidopa, o que possibilita a atenuação dos sintomas motores (Munhoz *et al.*, 2014). Contudo, em casos que os doentes só manifestam tremores são utilizados outros fármacos, como a amantadina, que promove a libertação da dopamina no interior do cérebro, os β -bloqueadores e inibidores da monoaminoxidase do tipo B, sobretudo a selegilina. Devido ao efeito protetor que a selegilina exerce sobre as células neuronais que produzem dopamina, este fármaco tem sido utilizado para adiar a utilização de levodopa em uma fase mais avançada da doença (Ferro e Pimentel, 2013).

Agonistas da dopamina e fármacos que evitam a sua metabolização também são efetivos nas complicações motoras (Youdim *et al.*, 2014). A clozapina evita as alucinações; os inibidores da colinesterase, assim como o pramipexol (agonista da dopamina) melhoram os sintomas relacionados com a depressão e os antagonistas dos recetores do glutamato de subtipo N-metil-D-aspartato (NMDA) têm sido utilizados e mostrado ser eficientes no domínio das discinesias motoras, muitas vezes causadas pela ação terapêutica da levodopa (Connolly e Lang, 2014).

Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer é a doença neurodegenerativa mais comum, que afeta mais de um terço das pessoas com idade superior a 85 anos (Nygaard *et al.*, 2014). É considerada de natureza genética, progressiva e irreversível e representa a forma mais comum de demência em todo o mundo (Silva *et al.*, 2013).

De uma forma geral, caracteriza-se por uma deterioração progressiva das funções cognitivas, incluindo perda de memória relacionada com níveis reduzidos de acetilcolina (neurotransmissor essencial para a passagem de informação até às terminações nervosas) e alterações comportamentais, que impossibilitam a realização de uma rotina diária normal (Nowacek *et al.*, 2009).

A doença de Alzheimer pode definir-se por dois tipos de lesões patológicas. Uma dessas lesões envolve proteínas fosforiladas e anormais associadas a microtúbulos, designadas por proteínas Tau, que constituem os emaranhados neurofibrilares, comuns nas doenças neurodegenerativas e bastante evidentes na doença de Alzheimer (Schneider e Sari, 2014).

A outra lesão patológica consiste na formação de placas amilóides, compostas por fragmentos da proteína β -amilóide, que formam agregados insolúveis de proteínas. Quando se agregam no SNC, formam fibras amilóides. Tal como os emaranhados neurofibrilares, também a presença de placas amilóides no SNC está associada a doenças neurodegenerativas, exercendo toxicidade celular e, conseqüentemente provocam a morte de células neuronais. Cada doença neurodegenerativa possui uma proteína que faz parte da constituição da substância amilóide, no caso da doença de Alzheimer é a proteína β -amilóide (Zolezzi *et al.*, 2014).

A agregação destas placas amilóides resulta de um desequilíbrio entre a sua produção e eliminação, que é um processo bastante complexo, envolvendo outras células, para além dos neurónios e das células da microglia (Silva *et al.*, 2013). O correto desempenho da função hepática, a integridade da BHE, bem como o estado do plexo coroide devem ser tidos em atenção perante tal desequilíbrio (Hirao *et al.*, 2015).

A degeneração de neurónios via inflamatória sucede devido à acumulação das placas proteicas de β -amilóide, uma vez que desencadeiam respostas imunológicas com a participação do óxido nítrico, espécies reativas de oxigénio, prostaglandinas e citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-6 (IL-6) e o TNF- α (Schneider e Sari, 2014). Atualmente é reconhecido o envolvimento da exposição a metais de transição, como o crómio, em concentrações sub-tóxicas na agregação destas placas (Zolezzi *et al.*, 2014).

O diagnóstico da doença de Alzheimer é confirmado tardiamente, através das alterações cognitivas e, principalmente, de memória (Nowacek *et al.*, 2009). Irritabilidade, confusão, comportamentos incertos, incapacidade em articular palavras e estabelecer um discurso coerente, isolamento social, dificuldade em reconhecer familiares e amigos e falta de vontade para realizar atividades que proporcionavam prazer são alguns dos sinais de alerta associados ao início do desenvolvimento desta doença (Ferro e Pimentel, 2013).

As terapêuticas disponíveis apenas diminuem ou mascaram os sintomas apresentados e incluem processos relacionados com a eliminação das placas proteicas β -amilóides, atenuação das atividades neuroinflamatórias, estabilização das proteínas Tau neuronais, modulação das respostas redox e bioquímicas, diminuição da formação de ROS, bem como aumento do crescimento e da função neuronal (Schneider e Sari, 2014).

Os fármacos tradicionalmente utilizados incluem os inibidores da acetilcolinesterase, que impedem a degradação da acetilcolina, aumentando a concentração na fenda sináptica. Alguns exemplos são o donepezilo, a rivastigmina e a galantamina, que se demonstram eficazes na fase ligeira a moderada da doença. Também os antagonistas dos recetores do glutamato de subtipo N-metil-D-aspartato (NMDA), como a memantina, competente na recuperação cognitiva e nas formas mais severas e os antioxidantes têm permitido controlar e adiar a progressão da doença (Silva *et al.*, 2013; Ferro e Pimentel, 2013). Contudo, a capacidade destes fármacos para atravessar a BHE e atingir o cérebro, exercendo aí a sua ação terapêutica ainda é muito reduzida. Por esta razão, estão a ser desenvolvidas novas formas farmacêuticas para o tratamento destas doenças neurodegenerativas (Costantino *et al.*, 2014), que irão ser abordadas no capítulo seguinte.

3. Tratamentos convencionais

3.1 Vantagens e limitações dos tratamentos convencionais

Apesar dos fármacos tradicionalmente utilizados serem eficazes no tratamento dos sintomas associados às doenças do SNC, estes ainda não são suficientemente efetivos e seguros para o seu diagnóstico e tratamento, devido às características anatómicas e fisiológicas do SNC (Denora *et al.*, 2009).

A existência de barreiras fisiológicas impõe vários obstáculos no direcionamento e entrega de fármacos no SNC, incluindo antibióticos, antineoplásicos e péptidos (Alyautdin *et al.*, 2014).

São duas as barreiras fisiológicas que dificultam a passagem de moléculas da circulação sanguínea para o cérebro (Figura 2). A primeira é constituída por capilares provenientes da divisão das artérias do córtex cerebral na substância encefálica (Denora *et al.*, 2009). As células endoteliais destes capilares encontram-se extremamente unidas, por junções de coesão, restringindo o movimento de compostos do sangue para o ambiente extracelular do cérebro. Estas células, através dos prolongamentos dos pés de astrócitos, que se encontram na sua membrana basal, constituem a denominada BHE (Patel *et al.*, 2013).

O líquido cefalorraquidiano (LCR) é produzido por um conjunto de células endimárias especializadas, que são células epiteliais que preenchem um tubo oco, através do qual o SNC se forma (Seeley *et al.*, 2005). O LCR rodeia o encéfalo e a medula espinal, protegendo o SNC e fornecendo alguns nutrientes. Quando as células endimárias se juntam a vasos sanguíneos e tecido de suporte constituem os plexos coroides, formados por invaginações da pia mãe vascular para os ventrículos. As células endoteliais dos vasos sanguíneos dos plexos coroides ligadas por junções de coesão formam a segunda barreira fisiológica: a barreira sangue-LCR (Denora *et al.*, 2009). Estas junções apertadas de células epiteliais nos plexos coroides são ligeiramente mais permeáveis que as encontradas nas células endoteliais do SNC. Desta forma, os fármacos e outras moléculas não conseguem passar entre as células, tendo de as atravessar para conseguir chegar ao cérebro (Patel *et al.*, 2013).

Deste modo, a presença da BHE representa o principal obstáculo à passagem de fármacos para o SNC. O tratamento de muitas doenças do SNC, como as neurodegenerativas é, então, dificultado pois os fármacos não conseguem atravessar a BHE em quantidade suficiente (Denora *et al.*, 2009).

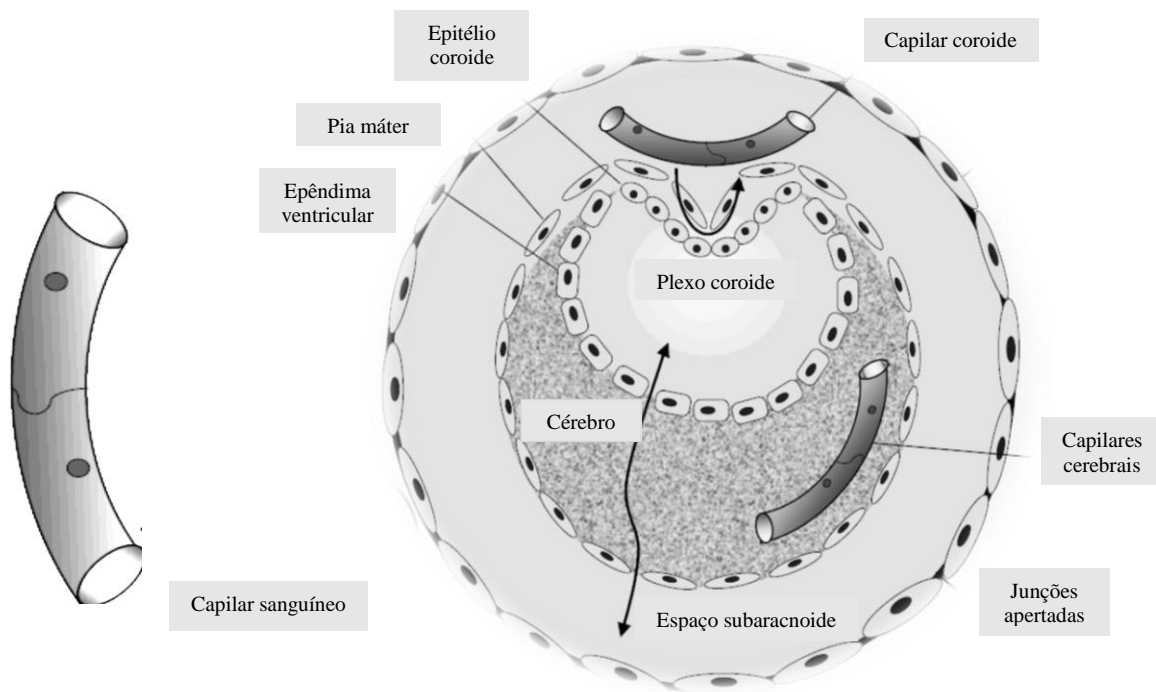


Figura 2: Representação esquemática das duas barreiras fisiológicas do cérebro (Adaptado de Denora *et al.*, 2009)

As abordagens terapêuticas tradicionalmente utilizadas para a entrega direta de fármacos no cérebro ou para a sua passagem através da BHE até ao cérebro têm sido aperfeiçoadas. Uma dessas abordagens, a mais invasiva, consiste na administração do fármaco diretamente no cérebro, via intratecal (Denora *et al.*, 2009). Na via intratecal, procede-se à administração, via injetável, de fármacos diretamente no espaço subaracnoide ou por punção na coluna lombar, evitando-se assim a necessidade de passagem pela BHE (Upadhyay, 2014). Para além da dor e do desconforto provocado no doente, durante a administração e após esta, surgem sintomas desagradáveis, como náuseas, cefaleias e febre. Em alguns casos os fármacos administrados podem causar neurotoxicidade e, conseqüentemente, convulsões, parestias, vertigens, vômitos e confusão (Longo *et al.*, 2013).

Uma segunda abordagem terapêutica para a entrada de fármacos no SNC, fundamenta-se no mecanismo de interrupção da BHE causado pela presença de tumores cerebrais (Upadhyay, 2014). Esta interrupção surge devido ao desenvolvimento de tumores na estrutura neovascular, que originam vasos de células endoteliais mais permeáveis do que os existentes nas células endoteliais normais da BHE, causando falhas nesta barreira e, conseqüentemente, um aumento da sua permeabilidade (Mikitsh e Chacko, 2014). Com efeito, os métodos utilizados para provocar uma interrupção na BHE consistem em gerar uma interrupção passageira nesta barreira, através da administração sistêmica de soluções hiperosmóticas ou compostos vasoativos, como a bradicinina e seus análogos ou alguns alquilgliceróis (Upadhyay, 2014). O uso de agentes osmóticos, como o manitol ou arabinose, envolve a expansão do volume sanguíneo, causando a interrupção da BHE (Patel *et al.*, 2013). Durante este intervalo de tempo, enquanto as junções apertadas entre as células endoteliais dos capilares estão comprometidas, a difusão paracelular de água e fármacos solúveis para o cérebro é aumentada (Mikitsh e Chacko, 2014). Contudo, a maioria dos agentes osmóticos utilizados provocam flutuações osmóticas, que afetam a homeostasia cerebral, impedindo ou limitando a passagem de nutrientes e gases fundamentais para o funcionamento cerebral (Upadhyay, 2014). Surgem assim danos nas células cerebrais. Por este motivo, a sua administração deve restringir-se a situações extremas, em que nenhuma outra opção possa ser utilizada, em um ambiente controlado para que não ocorram efeitos múltiplos (Alyautdin *et al.*, 2014).

Alguns meios farmacológicos podem, igualmente, provocar uma disrupção na BHE. Agentes proinflamatórios vasoativos endógenos, como a bradicinina, a histamina e o óxido nítrico, são potentes indutores do aumento da permeabilidade da BHE (Upadhyay, 2014). Porém, estes agentes endógenos não podem ser aplicados com segurança para auxiliar a passagem de fármacos para o SNC. Análogos da bradicinina, como o cereport, têm demonstrado melhores resultados, bem como uma maior estabilidade plasmática e tecidual (Denora *et al.*, 2009). Desta forma, um agente endógeno deve ser selecionado de acordo com a relação estrutura-atividade e pelo seu comportamento *in vivo*, independentemente de manifestar capacidade para penetrar no cérebro (Mikitsh e Chacko, 2014).

Os ultrassons também se demonstram úteis como mecanismos de interrupção da BHE. As ondas que emitem são capazes de provocar um alargamento dos poros desta barreira e, desta forma, a sua descontinuação. Porém, vários agentes neurotóxicos e outros fármacos podem invadir livremente o SNC, causando danos estruturais e funcionais em algumas regiões do cérebro, onde a BHE é mais fina (Upadhyay, 2014).

A terceira abordagem terapêutica está relacionada com alterações químicas em moléculas de fármaco de reduzido peso molecular, que resultem numa maior lipofilia, formando-se pró-fármacos. Estas alterações envolvem a adição de radicais de natureza lipofílica, como radicais éster, a moléculas contendo grupos carboxilo (-COOH), hidroxilo (-OH) e tiol (-SH) (Denora *et al.*, 2009). Os pró-fármacos são derivados reversíveis e inativos de moléculas de fármacos que, quando submetidos a uma ação enzimática ou a um mecanismo catabólico, sofrem uma alteração química (biotransformação) *in vivo*, libertando os radicais lipofílicos que foram previamente inseridos na molécula de fármaco original, bem como o fármaco na sua forma ativa (Alyautdin *et al.*, 2014). Para além disso, melhoram as propriedades físicas, químicas, farmacocinéticas e biofarmacêuticas do fármaco original, aperfeiçoando a sua absorção oral e solubilidade aquosa, bem como aumentando a lipofilia e o seu transporte ativo (Mikitsh e Chacko, 2014). Deste modo, os pró-fármacos melhoram a eficácia terapêutica do fármaco original e reduzem os efeitos adversos, aumentando a sua biodisponibilidade, permeabilidade na BHE e tempo de semi-vida no SNC (Upadhyay, 2014).

Atualmente são utilizados vários sistemas de pró-fármacos para a entrega seletiva do fármaco em locais específicos do cérebro, que têm sido utilizados no tratamento de doenças neurodegenerativas, como a doença de Parkinson (Hwang e Kim, 2014). O neurotransmissor dopamina, um dos principais intervenientes no desenvolvimento desta patologia, é muito hidrófilo. Através da sua conversão no alfa aminoácido, L-Dopa, a sua absorção no cérebro ocorre pela intervenção do grande transportador de aminoácidos do tipo 1 (LAT 1). A L-Dopa é, então, descarboxilada em dopamina no cérebro, pela descarboxilase dos L-aminoácidos (Denora *et al.*, 2009).

3.2 Novos sistemas terapêuticos

Apesar das três abordagens terapêuticas descritas na seção anterior, o seu uso tem sido reprovado por muitos investigadores. As modificações efetuadas para que os agentes terapêuticos atravessem a BHE alteram os sistemas de transporte responsáveis pelo fornecimento de nutrientes, metabolitos e gases essenciais, para dentro e fora do cérebro (Mikitsh e Chacko, 2014). Outra das dificuldades que apresentam está relacionada com a administração oral, muitas vezes requerida pelos doentes. Desta forma, os pró-fármacos teriam de ser absorvidos no trato gastrintestinal, alcançando o cérebro na sua forma inativa e intacta. O desenvolvimento de pró-fármacos com esta habilidade continua a constituir um desafio (Denora *et al.*, 2009).

Com o intuito de superar estes obstáculos, novos sistemas terapêuticos (por exemplo, micropartículas, lipossomas, micelas, dendrímeros, fulerenos e nanopartículas poliméricas, lipídicas e metálicas) têm sido desenvolvidos, proporcionando a entrega, direcionamento e ação dos fármacos em zonas específicas do cérebro, com maior eficácia e segurança. Nas próximas subseções são descritos alguns desses novos sistemas terapêuticos, bem como exemplos de estudos relativos à sua aplicação no tratamento de doenças neurodegenerativas.

3.2.1 Micropartículas

As micropartículas são sistemas de encapsulação formados por partículas com dimensões entre 1 e 100 μm , sólidas e com forma esférica, que veiculam moléculas de fármaco, permitindo a sua libertação controlada no local pretendido. Dividem-se em microcápsulas e microesferas. As primeiras são sistemas de reservatório formados por uma cápsula de natureza polimérica, que engloba um núcleo capaz de aprisionar as moléculas no seu interior. As microesferas são sistemas matriciais, nos quais as moléculas se encontram dispersas ou dissolvidas em uma rede polimérica (Maharaj *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2012).

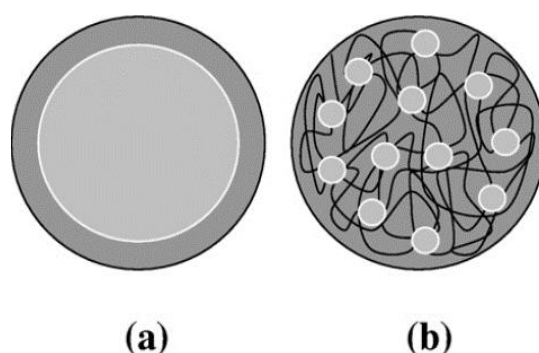


Figura 3: Tipos de micropartículas: (a) microcápsula e (b) microesfera (adaptado de Nesterenko *et al.*, 2013).

3.2.2 Sistemas coloidais

Os sistemas coloidais são sistemas de transporte de moléculas de fármacos, cujo potencial para utilização terapêutica tem vindo a ser muito estudado, uma vez que permitem a encapsulação, proteção, direcionamento e libertação de moléculas de fármaco de uma forma não invasiva para o SNC (Denora *et al.*, 2009).

Estes sistemas apresentam tamanhos compreendidos entre 1 e 1000 nm e incluem nanoemulsões, micelas, dendrímeros, lipossomas, nanocristais de fármaco e nanopartículas (por exemplo, poliméricas e lipídicas) (Upadhyay, 2014). A sua utilização permite melhorar a estabilidade, distribuição e ação do fármaco no local desejado, diminuindo os efeitos adversos que este poderia causar isoladamente. Contudo, uma das suas limitações reside no fato de serem capturados pelas células do sistema reticuloendotelial (SRE), o que diminui drasticamente o seu tempo de circulação no organismo, podendo impedir o fármaco de exercer a ação terapêutica (Alyautdin *et al.*, 2014).

Para além disso, a maior parte destes sistemas de transporte não consegue atravessar a BHE (Denora *et al.*, 2009). Neste contexto, os sistemas coloidais foram otimizados, através de modificações da sua superfície, como a adição de polietilenoglicol (PEG), anticorpos monoclonais e recetores (por exemplo, recetores de transferrina, de insulina e endocanabinóide) (Upadhyay, 2014).

3.2.2.1 Lipossomas

Lipossomas são vesículas de reduzidas dimensões, que possuem um compartimento interno hidrófilo (núcleo), rodeado por uma ou mais bicamadas de compostos anfifílicos, que geralmente são fosfolípidos. Constituem sistemas coloidais muito versáteis, uma vez que podem transportar tanto um fármaco com características hidrófilas (no seu núcleo) como com características lipófilas (acoplados ou inseridos nas bicamadas exteriores) (Wong *et al.*, 2012). Além disso, são biocompatíveis, biologicamente e imunologicamente inertes e, por isso, de reduzida toxicidade (Denora *et al.*, 2009).

Os lipossomas têm sido sugeridos como sistemas promissores, que podem ser usados no tratamento de muitas doenças do SNC, pois podem transportar diversos fármacos como, por exemplo, quimioterápicos, antiepiléticos e antirretrovirais, controlando a sua libertação na presença de fluidos biológicos (Wong *et al.*, 2012). Espera-se, portanto, que as moléculas de fármaco sejam transportadas até ao local da ação terapêutica, sem sofrerem degradação e exercendo efeitos secundários mínimos (Upadhyay, 2014). Porém, os lipossomas podem ser eliminados facilmente da corrente sanguínea pelos macrófagos do SRE, o que impede que os fármacos encapsulados exerçam a ação terapêutica desejada. Diminuindo o tamanho (<100nm) e/ou modificando a superfície dos lipossomas (Figura 4), estas limitações podem ser ultrapassadas (Denora *et al.*, 2009). O método mais utilizado para a modificação da superfície é a peguilação, que consiste na ligação de moléculas de PEG aos fosfolípidos da bicamada, o que faz com que estes se tornem “invisíveis” aos macrófagos do SRE e aumenta o seu tempo de circulação na corrente sanguínea (Wong *et al.*, 2012).

Denora *et al.* (2009) verificaram que a utilização de lipossomas cuja superfície foi alterada pela adição do péptido RGD (arginina-glicina- aspartato) permitem a entrega de moléculas de fármacos especificamente no cérebro (Denora *et al.*, 2009). Como em muitas doenças neurológicas, os leucócitos que possuem recetores de integrina conseguem atravessar a BHE e o péptido RGD consegue ligar-se a esses recetores, também os lipossomas com o péptido RGD são capazes de penetrar na BHE e libertar o fármaco no cérebro (Upadhyay, 2014).

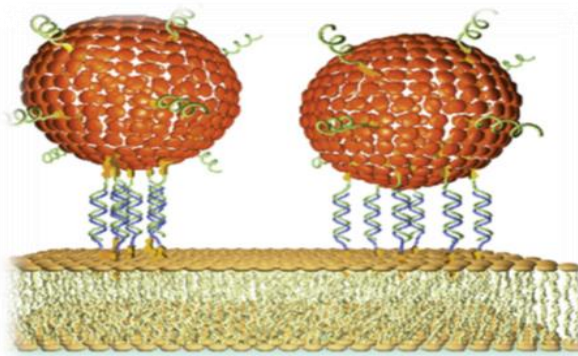


Figura 4: Lipossomas com a superfície modificada (adaptado de Beales e Vanderlick, 2014).

3.2.2.2 Micelas

As micelas são sistemas coloidais com tamanhos entre 5-100nm, formadas pela associação espontânea de agentes tensioativos com carácter anfifílico, em solução aquosa. Este processo só ocorre quando a concentração desses tensioativos na solução aquosa atinge a concentração micelar crítica (CMC). Podem ser constituídas por polímeros, fosfolípidos ou por uma combinação de ambos, possuindo uma cavidade interna hidrófoba, formada pelas caudas hidrofóbicas dos agentes tensioativos e um exterior hidrófilo, contendo as cabeças hidrofílicas destes agentes. As micelas poliméricas são as mais exploradas como sistemas de transporte, apesar de possuírem uma toxicidade superior às micelas fosfolipídicas, nas quais os lípidos utilizados, aprovados pela Food and Drug Administration (FDA), são seguros para uso farmacêutico (Silva *et al.*, 2013; Denora *et al.*, 2009).

Nos sistemas micelares, os fármacos encontram-se encapsulados ou ligados a uma das porções dos tensioativos, através de ligações covalentes. As suas principais vantagens são a sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, assim como o tamanho reduzido, o que facilita a veiculação de fármacos destinados a ser administrados por via parentérica (Alyautdin *et al.*, 2014).

Tal como os lipossomas, as micelas podem ser utilizadas no tratamento de algumas doenças neurológicas, principalmente as micelas poliméricas constituídas por copolímeros em bloco de Pluronic[®], que possuem duas cadeias hofrofílicas de óxido de etileno com uma cadeia hidrofóbica central de óxido de propileno, uma vez que estes polímeros conseguem atravessar facilmente as membranas das células endoteliais do cérebro (Denora *et al.*, 2009).

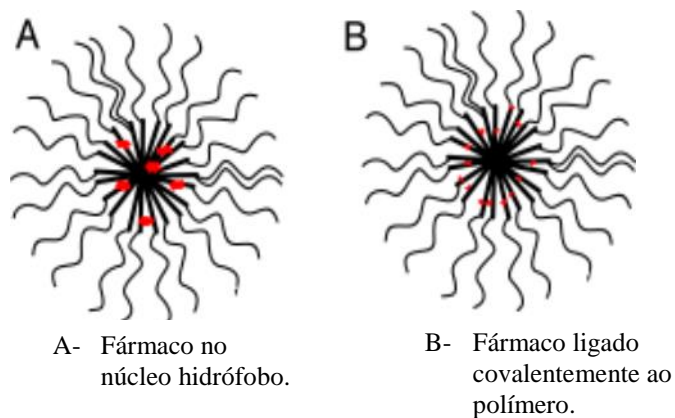


Figura 5: Micelas poliméricas (adaptado de Formariz *et al.*, 2004).

3.2.2.3 Dendrímeros

Os dendrímeros são macromoléculas sintéticas, constituídas por um núcleo do qual saem várias ramificações poliméricas, que se dividem em outras ramificações com elevado número de grupos funcionais à sua superfície. Possuem uma estrutura organizada, bastante complexa e tridimensional e um tamanho próximo e comparável ao das micelas e das nanopartículas, com um diâmetro entre 1-100 nm (Denora *et al.*, 2009; Upadhyay, 2014). A sua estabilidade é aumentada através da ligação de polímeros hidrófilos e hidrófobos nas suas superfícies ramificadas, o que lhe confere maior capacidade para se manter na circulação sanguínea durante um período de tempo maior (Alyautdin *et al.*, 2014).

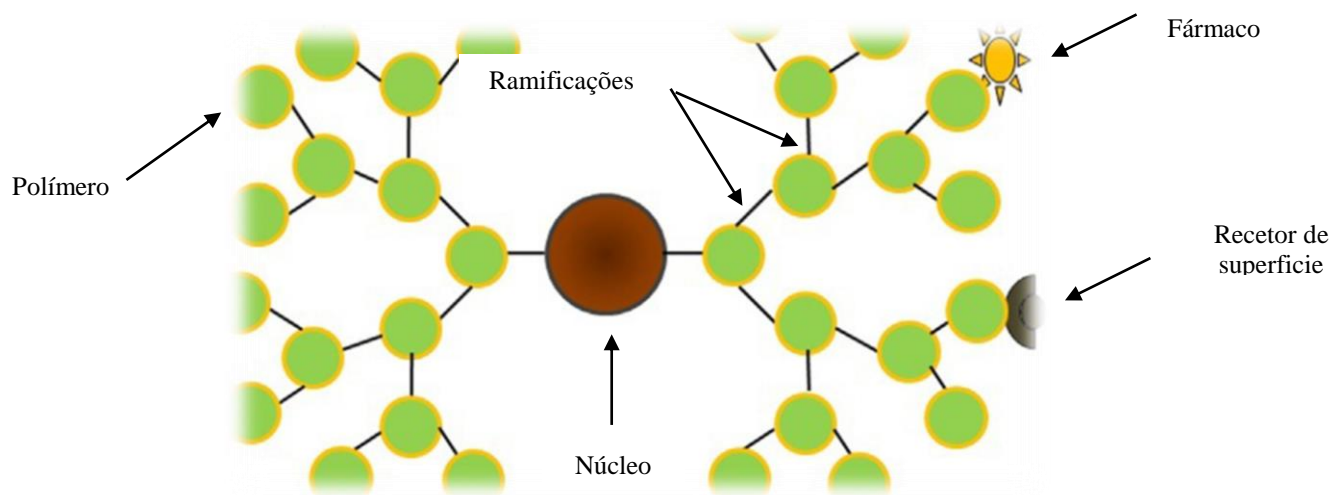


Figura 6: Estrutura típica de um dendrímero (adaptado de Kesharwani *et al.*, 2014).

3.2.2.4 Fullerenos

Os fullerenos são formados por moléculas de carbono estáveis, unidas por ligações de Van Der Waals, com forma esférica, tridimensional e fechada sobre si mesma, semelhante a uma esfera oca (Lana *et al.*, 2014). O número de carbonos que se organiza nesta estrutura é apresentado com nomenclaturas como, por exemplo, C60 (60 átomos de carbono) e C70 (70 átomos de carbono) (Pereira, 2012).

Possuem propriedades antioxidantes e características fotofísicas e eletroquímicas, podendo ser aplicados em medicina e bioquímica, como sistemas de encapsulação e direcionamento de fármacos, por exemplo, no tratamento de tumores, doenças virais e na doença de Parkinson (Lana *et al.*, 2014). A sua principal desvantagem reside no seu elevado potencial de toxicidade, uma vez que não são biodegradáveis (Pereira, 2012).

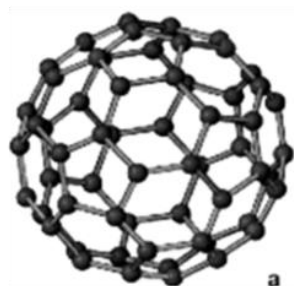


Figura 7: Estrutura de um fullereno (adaptado de Pereira, 2012).

3.2.2.5 Nanopartículas

As nanopartículas são partículas sólidas com tamanhos que variam entre 1 e 1000nm, podendo ser compostas por polímeros, lípidos, proteínas e metais (Denora *et al.*, 2009).

3.2.2.5.1 Nanopartículas poliméricas

As nanopartículas poliméricas podem ser de dois tipos (Figura 8), nomeadamente nanoesferas e nanocápsulas. Enquanto as nanoesferas consistem numa matriz polimérica, as nanocápsulas possuem um núcleo, geralmente de carácter lipófilo, rodeado por um invólucro de natureza polimérica (Wong *et al.*, 2012).

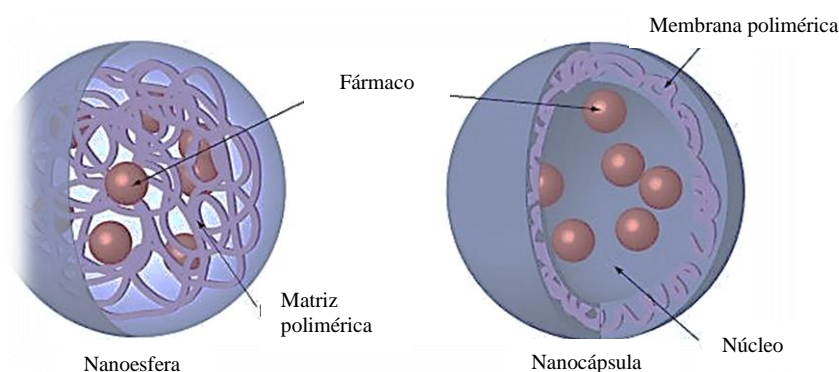


Figura 8: Representação esquemática dos dois tipos de nanopartículas poliméricas (adaptado de Bei *et al.*, 2010).

As nanopartículas poliméricas podem ser constituídas por polímeros biodegradáveis de origem natural (contendo proteínas, como a albumina, e polissacarídeos, como o quitosano) ou por polímeros biodegradáveis sintéticos, que incluem o ácido polilático (PLA), poli (ácido láctico-co-glicólico), (PLGA), poli (alquil cianoacrilato) (PACA), poli (butil cianoacrilato) (PBCA) e copolímeros de acrílico (Denora *et al.*, 2009; Upadhyay, 2014). Este tipo de nanopartículas consegue interagir com barreiras fisiológicas e, até mesmo, passar através delas (Patel *et al.*, 2013). Por isso, são utilizados no direcionamento de fármacos, contribuindo para a sua biodistribuição controlada e segura. As moléculas de fármaco podem encontrar-se aprisionadas no interior, dispersas na matriz polimérica ou adsorvidas à superfície das nanopartículas (Denora *et al.*, 2009).

Algumas das vantagens das nanopartículas poliméricas estão relacionadas com o direcionamento, distribuição e libertação das moléculas de fármaco no local alvo, fornecendo proteção contra a degradação química e enzimática (Upadhyay, 2014).

Porém, tal como acontece com outros transportadores coloidais, também as nanopartículas poliméricas podem ser eliminadas rapidamente da circulação sanguínea, após a sua administração via intravenosa, pelo SRE (Denora *et al.*, 2009). Uma das estratégias mais utilizadas para colmatar este problema consiste no emprego de partículas de reduzidas dimensões (<100nm) ou na funcionalização das nanopartículas, mediante a adição de moléculas de PEG ou anticorpos monoclonais, evitando a ativação de neutrófilos do SRE, a agregação plaquetária e a inflamação (Alyautdin *et al.*, 2014). Para além disso, os produtos resultantes da sua degradação podem tornar-se tóxicos, gerando danos no SNC (Wong *et al.*, 2012).

3.2.2.5.2 Nanopartículas lipídicas

Com o intuito de ultrapassar algumas limitações apresentadas por outros sistemas coloidais, nomeadamente pelos lipossomas, nanopartículas poliméricas e nanoemulsões surgiram, na década de 90, as nanopartículas constituídas por lípidos sólidos, designadas por nanopartículas de lípidos sólidos (*Solid Lipid Nanoparticles, SLN*) (Wissing *et al.*, 2004).

As SLN consistem em dispersões aquosas, constituídas por nanopartículas com um tamanho de 50-1000nm. São sistemas de reservatório formados por numa matriz sólida constituída por lípidos fisiológicos (por exemplo, triglicerídeos, complexos de glicerídeos e ácidos gordos), estáveis à temperatura ambiente e corporal, que se encontram estabilizados por um ou dois tensioativos (Mehnert e Mäler., 2001; Lopes e Souto, 2011).

As SLN partilham as vantagens dos restantes sistemas coloidais, designadamente, proteção, capacidade de carga, libertação controlada e direcionamento de fármacos para os locais alvo. Além disso, estes sistemas são fáceis de reproduzir em larga escala e apresentam uma ausência ou menor risco de toxicidade, uma vez que as moléculas lipídicas e os agentes tensioativos utilizados são substâncias GRAS (*Generally Recognized as Safe*) e não são usados solventes orgânicos durante a sua produção (Mehnert e Mäder., 2001; Wissing *et al.*, 2004).

Porém, as SLN apresentam algumas desvantagens, relacionadas com a reduzida capacidade de carga de fármaco na matriz sólida, assim como com a possibilidade de surgirem transições polimórficas na estrutura das nanopartículas lipídicas, durante o seu armazenamento. Essas transições para estruturas quase perfeitas e cristalinas podem causar a expulsão do fármaco da matriz lipídica (Lopes e Souto, 2011; Wissing *et al.*, 2004). Por forma a ultrapassar estas limitações, surgiu uma segunda geração de nanopartículas lipídicas, designadas por vetores lipídicos nanoestruturados (*Nanostructured Lipid Carriers, NLC*). Estas nanopartículas apresentam uma matriz sólida, constituída por uma mistura de lípidos sólidos e lípidos líquidos, ambos estáveis à temperatura corporal e ambiente (Müller *et al.*, 2000). Forma-se, assim, uma matriz lipídica imperfeita, com maior espaço entre os lípidos, permitindo acomodar uma maior quantidade de moléculas de fármaco. No entanto, é importante salientar que as SLN continuam a ser sistemas eficientes, pois nem sempre os NLC são mais estáveis (Silva *et al.*, 2013).

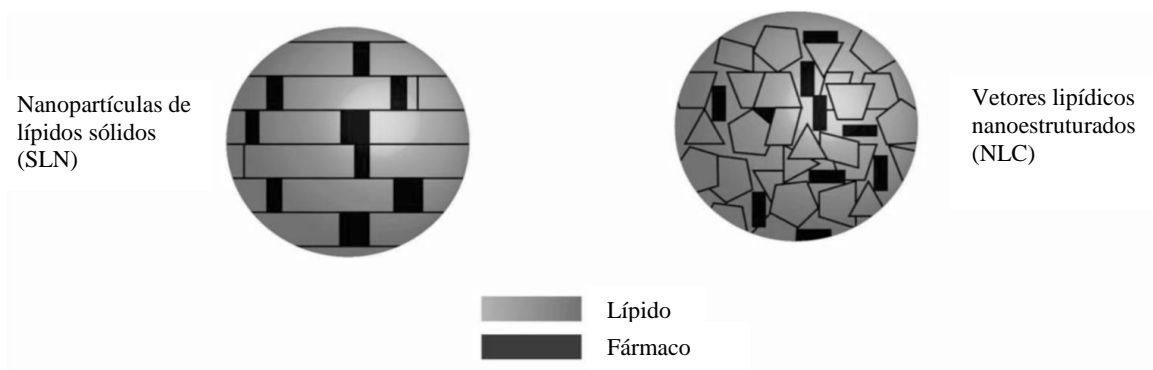


Figura 9: Ilustração das duas gerações de nanopartículas de lípidos sólidos: SLN e NLC (adaptado de Silva *et al.*, 2012).

As SLN podem ser utilizadas para o tratamento de doenças do SNC, como tumores cerebrais, uma vez que se ligam às apolipoproteínas do tecido cerebral (Wong *et al.*, 2012). Podem incorporar e transportar até ao cérebro agentes anti-tumorais, como camptotecina, doxorubicina e paclitaxel (Denora *et al.*, 2009).

3.2.2.6 Nanopartículas metálicas ou superparamagnéticas

As nanopartículas metálicas mais utilizadas são constituídas por óxidos, como o óxido de zinco e dióxido de zinco (Wang, 2004). Possuem propriedades físicas e químicas únicas, são agentes absorventes, catalíticos e de redução química, têm características de adsorção, atividade sensorial, bactericida, magnética e uma elevada capacidade para sequestrar ligandos (Sarkar *et al.*, 2012).

Nos últimos anos têm sido investigadas nanopartículas magnéticas de óxidos de ferro II e III (Fe_2O_3 e Fe_3O_4) (Gupta e Gupta, 2005). As nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro podem ser utilizadas como agentes de contraste em ressonâncias magnéticas, na separação de células, em imunoenaios, reparação de tecidos, bem como induzir a hipertermia para o tratamento do cancro, através da exposição dos tecidos a um campo magnético alternado (Indira e Lakshmi, 2010). Para além disso, podem ser usadas para transportar e direcionar fármacos, proteínas, anticorpos e enzimas para o local de ação terapêutica (Maleki *et al.*, 2012).

A aplicação das nanopartículas metálicas ou superparamagnéticas em biomedicina e bioengenharia requer que estas sejam biocompatíveis e isentas de toxicidade, possuam tamanhos inferiores a 100nm e níveis elevados de magnetização, para que a uniformidade das suas propriedades físicas e químicas seja garantida (Laurent *et al.*, 2008). Para transportar e direcionar fármacos para os locais específicos da sua ação terapêutica é necessário efetuar um revestimento específico, biocompatível e não tóxico à superfície das nanopartículas metálicas (Gupta e Gupta, 2005). Neste sentido, têm sido utilizados revestimentos poliméricos (Figura 10), que efetuam um impedimento estérico, evitando que se formem aglomerados de nanopartículas. Simultaneamente, tornam as propriedades de superfície das nanopartículas magnéticas funcionais (Sun *et al.*, 2008).

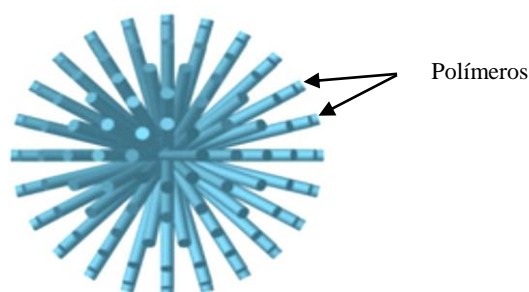


Figura 10: Nanopartícula magnética com polímeros inseridos na sua superfície (adaptado de Sun *et al.*, 2008).

4. Novas estratégias terapêuticas para o tratamento de doenças neurodegenerativas: Alzheimer e Parkinson

A doença de Alzheimer e a doença de Parkinson são as doenças neurodegenerativas mais conhecidas e estudadas em todo o mundo. Ainda não existe cura para estas doenças, mas têm sido desenvolvidos novos métodos, que recorrem à nanomedicina, para alcançar um tratamento efetivo (Wong *et al.*, 2012).

Na doença de Alzheimer, os objetivos do tratamento consistem na dissolução das placas de β -amiloide e dos emaranhados neurofibrilares. Relativamente à doença de Parkinson, o que se pretende é aumentar a produção do neurotransmissor dopamina (Zolezzi *et al.*, 2014).

Neste sentido, os sistemas à base de nanopartículas lipídicas, poliméricas e metálicas, dendrímeros, fulerenos, nanoemulsões e micelas têm sido apresentados como potenciais formas de tratamento da doença de Alzheimer e de Parkinson, dada a sua facilidade em alcançar o SNC, libertando os fármacos no local alvo, com a máxima segurança e eficácia (Re *et al.*, 2012).

Nas seguintes subsecções são descritos os resultados obtidos em alguns dos estudos recentes, que utilizaram estes sistemas no tratamento da doença de Alzheimer e de Parkinson.

4.1 Novos sistemas terapêuticos utilizados na Doença de Alzheimer

Os fármacos tradicionalmente utilizados no tratamento da doença de Alzheimer são administrados via oral, como é o caso do donepezilo, da memantina, da rivastigmina e da galantamina (Schneider e Sari, 2014). Contudo, a sua ação terapêutica no SNC é condicionada pela estrutura da BHE, não atingindo concentrações eficazes para o tratamento desta doença. Os novos sistemas terapêuticos permitem ultrapassar as dificuldades que estes fármacos apresentam, como irá ser referido seguidamente.

Lipossomas

Yang *et al.* (2013) desenvolveram lipossomas contendo rivastigmina modificados com péptidos de penetração celular, com o intuito de aumentar a quantidade de rivastigmina no cérebro, através da sua administração intranasal (Yang *et al.*, 2013).

Os resultados do estudo permitiram verificar que os lipossomas melhoraram o efeito terapêutico da rivastigmina, comparativamente à sua ação isolada ou quando é administrada via intravenosa. Estes resultados devem-se ao fato de estes sistemas de transporte, quando administrados pela via intranasal, melhorarem a farmacodinâmica da rivastigmina, no que diz respeito à sua habilidade para penetrar e atravessar a BHE, minimizando efeitos adversos e promovendo a entrega do fármaco nas regiões do SNC mais afetadas pela doença de Alzheimer, nomeadamente no hipocampo e no córtex cerebral, em concentrações adequadas para a sua ação terapêutica (Fonseca-Santos *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2013).

Fonseca-Santos *et al.* (2015) realizaram um estudo comparativo com lipossomas multifuncionais, lipossomas carregados com análogos de curcumina e lipossomas veiculando anticorpos monoclonais anti-transferrina (mAB). Os resultados obtidos demonstraram que estes sistemas de transporte apresentam elevada afinidade para as placas β -amilóides, retardando a sua agregação, podendo ser utilizados no seu diagnóstico e tratamento. Os lipossomas com mAB revelaram ser mais competentes a atravessar a BHE (Fonseca-Santos *et al.*, 2015).

Nanopartículas poliméricas

Nanopartículas poliméricas conjugadas covalentemente com agentes quelantes, como o cobre-D-penicilamina, têm vindo a ser utilizadas para remover e neutralizar alguns metais presentes no cérebro, como o cobre (Cu (II)), o zinco (Zn (II)) e o ferro (Fe (III)), que se tornam nocivos em concentrações anormais, estando envolvidos na agregação das placas β -amilóides (Liu *et al.*, 2006). Estas nanopartículas ligadas covalentemente a metais, podem estabelecer ligações dissulfureto com as proteínas β -amilóides das placas proteicas, formadas pela intervenção do cobre, sendo capazes de as dissolver (Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2012). Nanopartículas poliméricas ligadas a moléculas de PEG e conjugadas com agentes quelantes, como a deferoxamina, são capazes de quelar iões metálicos em locais alvo no cérebro, uma vez que atravessam a BHE, através da ligação que estabelecem com a apolipoproteína E e apolipoproteína A1, penetrando nos microvasos das células endoteliais, por meio do recetor das lipoproteínas de baixa densidade (Spuch *et al.*, 2012).

Nanopartículas de poliestireno funcionalizadas com grupos carboxilo e conjugadas com o 2-metil-N- (2-aminoetil) -3 hidroxilo-4-piridinona permitiram verificar que a entrega de agentes quelantes nos neurónios pode inibir a agregação das placas β -amilóides (Liu *et al.*, 2009).

A curcumina é um composto derivado de plantas, com propriedades antioxidantes e anti-amilóides benéficas para o tratamento da doença de Alzheimer. A sua insolubilidade em água limita o seu potencial terapêutico, pelo que foram desenvolvidas nanopartículas contendo este agente terapêutico, nomeadamente nanopartículas poliméricas, constituídas por PLGA (Mathew *et al.*, 2012). Estas nanopartículas conjugadas com uma porção de um péptido de 12 aminoácidos, que possui elevada afinidade para os neurónios, o Tet-1, foram testadas *in vitro*. Os resultados demonstraram a capacidade destas nanopartículas para destruir os agregados β -amilóides, a sua forte atividade antioxidante e ausência de citotoxicidade, tendo sido sugerida a sua utilização no tratamento da doença de Alzheimer (Kreuter, 2014).

Zhang *et al.* (2014) desenvolveram um estudo sobre a aplicação de nanopartículas na entrega do fator básico de crescimento de fibroblastos (bFGF) para o cérebro, via intranasal, em ratinhos (Zhang *et al.*, 2014.). Foram utilizadas nanopartículas poliméricas, conjugadas com lectina de *Solanum tuberosum* (STL), encapsulando o bFGF, que conseguem ligar-se de forma seletiva à N-acetilglucosamina, presente na membrana epitelial nasal, facilitando a entrega do bFGF no cérebro, com efeitos adversos muito reduzidos (Fonseca-Santos *et al.*, 2015). Verificou-se uma melhoria da memória e da atividade da acetilcolinesterase no grupo dos ratinhos com a doença de Alzheimer (grupo teste), em relação ao grupo controlo. Assim, as nanopartículas STL-bFGF constituem um sistema de entrega de fármacos, como peptídeos e proteínas, para o SNC bastante promissor (Fonseca-Santos *et al.*, 2015).

Nanopartículas constituídas por polímeros biodegradáveis, como o PEG-PLA, foram preparadas com a intenção de estudar a sua capacidade de entrega nas lesões cerebrais. Neste estudo, o PEG-PLA foi modificado com um ligando novo constituído por 12 aminoácidos e com um peptídeo D-enantiomérico. Os resultados dos estudos *ex vivo* permitiram verificar a distribuição das nanopartículas em zonas cerebrais danificadas, comprovando a ausência de toxicidade celular e a possibilidade da sua utilização para o diagnóstico e tratamento precoce da doença de Alzheimer (Zhang *et al.*, 2014).

Nanopartículas poliméricas constituídas por poli (butil cianoacrilato) ligadas a moléculas de PEG com fatores de crescimento neuronal adsorvidos à sua superfície, também demonstraram proporcionar uma melhoria significativa da memória em doentes com Alzheimer (Kreuter, 2014).

Nanopartículas lipídicas (SLN e NLC)

A piperina é um composto orgânico derivado da piperidina, que se encontra na pimenta preta (*Piper nigrum* L.), com atividade anticolinesterásica, pertencendo a um conjunto de agentes terapêuticos fitoquímicos que podem ser utilizados no tratamento da doença de Alzheimer (Yusuf *et al.*, 2013). Desta forma, foram desenvolvidas SLN contendo piperina encapsulada e ligadas a moléculas de PEG. Estes sistemas demonstraram ser capazes de diminuir os valores da acetilcolinesterase, aumentar os valores da superóxido dismutase, reduzir placas e emaranhados neurofibrilares, característicos da doença de Alzheimer. Os seus benefícios terapêuticos foram considerados superiores aos do donepezilo (Kreuter, 2014).

Bondi *et al.* (2009) desenvolveram SLN com ácido-ferúlico encapsulado, um composto fenólico com elevada atividade antioxidante, utilizado no tratamento da doença de Alzheimer (Bondi *et al.*, 2009). Foi comprovada a ausência de citotoxicidade das SLN em células de neuroblastoma humano, assim como a sua capacidade para penetrar nestas células. Durante o estudo, foi observado que o ácido ferúlico encapsulado nas SLN apresenta maior eficácia na redução de espécies reativas de oxigénio presentes nas células do neuroblastoma, relativamente à sua ação na forma livre. Assim, as SLN com ácido ferúlico encapsulado conseguem proteger os neurónios contra o *stress* oxidativo induzido pelas espécies reativas de oxigénio, constituindo um sistema de transporte adequado para o direcionamento e entrega de fármacos como os agentes colinérgicos (Fonseca-Santos *et al.*, 2015).

Sood *et al.* (2013) produziram NLC contendo curcumina e donepezilo encapsulados para a entrega no cérebro, através da via intranasal. Foi demonstrado que através da via intranasal, uma maior concentração de donepezilo atingiu o cérebro, relativamente à administração intravenosa do mesmo fármaco (Sood *et al.*, 2013). Foi igualmente comprovado que as NLC contendo curcumina e donepezilo encapsulado têm a capacidade de melhorar a memória, aumentar os níveis de acetilcolina e diminuir os danos causados pelo *stress* oxidativo, em comparação com o fármaco livre (Fonseca-Santos *et al.*, 2015).

Nanopartículas magnéticas

Estudos *in vivo* utilizando nanopartículas magnéticas com anticorpos monoclonais acoplados à sua superfície, demonstraram que estas são eficazes no diagnóstico e tratamento da doença de Alzheimer (Zolezzi *et al.*, 2014). Também nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro, quando se ligam a placas β -amilóides, possibilitam a sua visualização por imagens de ressonância magnética e, por isso, permitiram o diagnóstico precoce e não invasivo da doença de Alzheimer em ratos transgênicos (Cheng *et al.*, 2015). Estas nanopartículas foram conjugadas com curcumina e revestidas com o copolímero anfifílico em bloco de PEG-ácido polilático (PEG-PLA), para serem estáveis e biocompatíveis. Os resultados do estudo demonstraram que o PEG prolongou o tempo de permanência das nanopartículas na circulação sanguínea, melhorando a sua penetração na BHE (Li *et al.*, 2011).

Mediante a aplicação de um campo magnético externo, as nanopartículas magnéticas de óxido de ferro conseguem estabelecer ligações com as fibras amilóides, eliminando-as completamente (Skaat *et al.*, 2009). Também nanopartículas magnéticas associadas a agentes quelantes têm-se demonstrado eficazes a eliminar iões metálicos em regiões específicas do cérebro, inibindo a formação de placas β -amilóides, um dos principais mecanismos patológicos responsáveis pelo aparecimento da doença de Alzheimer, bem como reduzindo a toxicidade que estas desencadeiam no SNC (Zolezzi *et al.*, 2014).

Micelas e dendrímeros

Tal como as nanopartículas associadas a agentes quelantes, micelas acopladas a moléculas de PEG e dendrímeros de poliamidoamida conjugados com ácido siálico, são competentes na diminuição da neurotoxicidade induzida pelas placas β -amilóides (Spuch *et al.*, 2012).

Na Tabela 3 são apresentados os resultados mais relevantes obtidos em estudos experimentais, usando novos sistemas terapêuticos, para o tratamento da doença de Alzheimer.

Tabela 3: Exemplos de novos sistemas terapêuticos estudados para o diagnóstico e tratamento da doença de Alzheimer.

Tipo de sistema	Mecanismo de ação/ efeito terapêutico	Referências bibliográficas
Lipossomas modificados com péptidos de penetração celular contendo rivastigmina.	Melhoram a farmacodinâmica da rivastigmina.	(Yang <i>et al.</i> , 2013) (Fonseca-Santos <i>et al.</i> , 2015)
Lipossomas carregados com análogos de curcumina e lipossomas veiculando mAB.	Retardam a agregação das placas proteicas β -amilóides.	(Fonseca-Santos <i>et al.</i> , 2015)
Nanopartículas poliméricas conjugadas covalentemente ao cobre-D-penicilamina.	Remoção e neutralização de metais nocivos, envolvidos na agregação das placas proteicas β -amilóides.	(Liu <i>et al.</i> , 2006) (Rodríguez-Rodríguez <i>et al.</i> , 2012)
Nanopartículas poliméricas ligadas ao PEG e conjugadas com agentes quelantes.	Quelutam iões metálicos em locais alvo no cérebro, pois são capazes de atravessar a BHE.	(Liu <i>et al.</i> , 2006) (Spuch <i>et al.</i> , 2012)
Nanopartículas poliméricas de poliestireno funcionalizadas com grupos carboxilo e conjugadas com o 2-metil-N-(2-aminoetil) – 3 hidroxilo-4-piridinona.	Inibem a agregação das placas β -amilóides.	(Liu <i>et al.</i> , 2009) (Skaat <i>et al.</i> , 2009)
Nanopartículas poliméricas de PLGA contendo curcumina.	Destruição dos agregados β -amilóides, forte atividade antioxidante e ausência de citotoxicidade.	(Mathew <i>et al.</i> , 2012) (Kreuter, 2014)
Nanopartículas poliméricas, conjugadas com lectina, encapsulando o bFGF.	Melhoraram a memória e a atividade da acetilcolinesterase.	(Zhang <i>et al.</i> , 2014.) (Fonseca-Santos <i>et al.</i> , 2015)

Novos sistemas terapêuticos para a administração de fármacos utilizados no tratamento de doenças neurodegenerativas: Alzheimer e Parkinson

Nanopartículas poliméricas constituídas por PBCA ligadas ao PEG com fatores de crescimento neuronal adsorvidos à superfície.	Proporcionam uma melhoria da memória.	(Kreuter, 2014).
SLN com ácido-ferúlico encapsulado.	Neuroprotecção contra o <i>stress</i> oxidativo e sistema de transporte adequado para o direcionamento e entrega de agentes colinérgicos.	(Bondi <i>et al.</i> , 2009). (Fonseca-Santos <i>et al.</i> , 2015)
NLC com curcumina e donepezilo encapsulado.	Melhoram a memória, aumentam os níveis de acetilcolina e diminuem os danos causados pelo <i>stress</i> oxidativo.	(Sood <i>et al.</i> , 2013) (Fonseca-Santos <i>et al.</i> , 2015)
Nanopartículas magnéticas com anticorpos monoclonais acoplados.	Eficazes no diagnóstico e tratamento da doença de Alzheimer.	(Zolezzi <i>et al.</i> , 2014)
Nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro conjugadas com curcumina e revestidas com PEG-PLA.	Visualização das placas β -amilóides.	(Kreuter, 2014)
Nanopartículas magnéticas de óxido de ferro.	Eliminam completamente as fibras amilóides, em solução aquosa.	(Skaat <i>et al.</i> , 2009)
Micelas acopladas a moléculas de PEG.	Diminuição da neurotoxicidade induzida pelas placas β -amilóides.	(Spuch <i>et al.</i> , 2012)
Dendrímeros de poliamidoamida conjugados com ácido siálico	Diminuição da neurotoxicidade induzida pelas placas β -amilóides	(Spuch <i>et al.</i> , 2012)

4.2 Novos sistemas terapêuticos utilizados na doença de Parkinson

Os tratamentos tradicionais da doença de Parkinson envolvem fármacos, como por exemplo, agonistas da dopamina, levodopa, anticolinérgicos e o recurso à cirurgia (Connolly e Lang, 2014).

Atualmente, novas abordagens terapêuticas têm sido introduzidas no sentido de aumentar a ação dos fármacos já existentes e diminuir os seus efeitos adversos, através da utilização de novos sistemas terapêuticos, como sistemas de transporte da dopamina e dos seus agonistas. Microcápsulas, nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas, dendrímeros e fulerenos são alguns dos novos sistemas terapêuticos utilizados para efetuar o transporte destes fármacos até ao SNC (Stayte e Vissel, 2014).

Microcápsulas

Modelos experimentais utilizando ratinhos, permitiram verificar que os sistemas de microencapsulação de enxertos de células embrionárias dopaminérgicas e de células PC12, i.e., células de linhagem dopaminérgica, são vantajosos na eliminação dos sintomas da doença de Parkinson (Spuch *et al.*, 2012).

Nanopartículas poliméricas

Foi entendido que os fatores neurotróficos, isto é, pequenas proteínas necessárias para a subsistência das células neuronais, poderiam ser usados para ativar as células “adormecidas” produtoras de dopamina (Wong *et al.*, 2012). Neste contexto, foram desenvolvidas nanopartículas poliméricas contendo plasmídeos de ADN recombinante compactados, que codificam um fator neurotrófico derivado de uma linha das células da glia (GDNF). Os seus efeitos foram estudados utilizando uma técnica não viral, que permitiu transferir o gene que codifica o GDNF para células do corpo estriado do mesencéfalo de ratinhos. O plasmídeo de ADN que codifica o GDNF foi compactado em nanopartículas de ADN (DNPS) e procedeu-se à sua administração, via injetável, no corpo estriado e desnervado de ratinhos, com lesões causadas pela 6-hidroxidopamina (Spuch *et al.*, 2012).

Após uma semana o grupo experimental de ratinhos recebeu uma porção de tecido mesencefálico e uma suspensão de células implantadas no corpo estriado e desnervado, que foram tratadas com GDNF DNPS. Em ambas as situações, verificou-se um aumento do número de linfócitos T auxiliares, comparativamente ao grupo controle que recebeu uma solução salina (Yurek *et al.*, 2009). Assim, nanopartículas contendo plasmídeos de ADN recombinantes compactados, quando injetadas no corpo estriado do mesencéfalo, provocam uma expressão celular exacerbada da proteína GDNF, em quantidades capazes de desempenhar suporte neurotrópico para enxertos de neurónios dopaminérgicos embrionários (Spuch *et al.*, 2012).

Nanopartículas poliméricas de PLGA com nicotina encapsulada apresentaram um efeito neuroprotetor contra a 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina, um composto que induz a doença de Parkinson em células dopaminérgicas de ratinhos, segundo um estudo efetuado por Tiwari *et al.* (2013). Este efeito de proteção das células neuronais foi comprovado através da visualização de uma melhoria da viabilidade de neurónios imunorreativos, da capacidade destas nanopartículas para modular os níveis de dopamina, aumentar a ativação da microglia, a expressão da glutathione-S-transferase de alfa-4 e modular a apoptose (Tiwari *et al.*, 2013).

Recentemente, foi descoberta a utilização de nanopartículas poliméricas ligadas ao ácido retinóico, um produto metabólico da vitamina A ou retinol, que tem um papel relevante no desenvolvimento do SNC nos mamíferos (Esteves *et al.*, 2015). O uso de nanopartículas contendo ácido retinóico diminui os efeitos adversos e melhora as suas propriedades protetoras sobre os neurónios dopaminérgicos, comparativamente à sua administração isolada (Maia *et al.*, 2011). Num modelo animal, utilizando ratinhos com doença de Parkinson induzida verificou-se que as nanopartículas poliméricas com ácido retinóico provocaram uma redução da perda de neurónios dopaminérgicos na substância cinzenta e aumentaram os níveis de expressão de fatores de transcrição. Assim, foi demonstrado o seu efeito de suporte e de manutenção da função dos neurónios dopaminérgicos, sendo esta considerada uma estratégia inovadora para retardar a progressão da doença de Parkinson (Esteves *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2012).

Nanopartículas poliméricas de quitosano contendo agonistas de dopamina permitem o direcionamento e entrega do fármaco diretamente no local alvo, isto é, nos recetores dopaminérgicos localizados no neurónio pós-sináptico, estimulando esses recetores e aumentando a eficácia da levodopa, precursor da dopamina (De Giglio *et al.*, 2011).

Nanopartículas poliméricas, constituídas por PLGA, encapsuladas com éster metílico da levodopa e benserazida, um inibidor da descarboxilase que melhora a ação terapêutica da levodopa, administradas em ratinhos, demonstraram que este sistema de transporte da levodopa causa uma supressão da discinesia, característica da doença de Parkinson (Gendelman *et al.*, 2015).

Nanopartículas poliméricas de PEG-PLGA conjugadas com odorrana lectina, a menor e menos imunogénica lectina da família das lectinas, foram utilizadas para encapsular e melhorar a entrega no cérebro, via intranasal, de fármacos antiparkinsonianos (Wen *et al.*, 2011). O péptido urocortina, um fator de libertação de corticotrofina, capaz de restabelecer o movimento, foi encapsulado nas nanopartículas de PLGA (Abuirmeileh *et al.*, 2007). A eficácia deste sistema foi verificada através da sua administração, via intranasal, em ratinhos com a doença de Parkinson. Os resultados demonstraram que a utilização de nanopartículas de PEG-PLGA conjugadas com lectina permitiram aumentar a entrega e os efeitos terapêuticos antiparkinsonianos da urocortina no cérebro, comparativamente a lectinas não encapsuladas em nanopartículas (Wen *et al.*, 2011).

A ação de nanopartículas poliméricas (formadas por complexos de copolímeros, nomeadamente polietilenoimina-PEG) acopladas à catalase, enzima envolvida na peroxidação lipídica que conduz ao *stress* oxidativo, foi estudada através da exposição, *in vitro*, de macrófagos da medula óssea que, posteriormente, foram transferidos para ratinhos com doença de Parkinson induzida (Batrakova *et al.*, 2007). Os resultados demonstram que estas nanopartículas conseguem atravessar a BHE e entregar a catalase em quantidades eficazes para a remoção do peróxido de hidrogénio, existente nas células da microglia, comparativamente à catalase “livre”. Por isso, as nanopartículas acopladas a PEG e à catalase têm vindo a ser utilizados para a diminuição de radicais livres, relacionados com o desenvolvimento da doença de Parkinson (Spuch *et al.*, 2012).

Kondrasheva *et al.* (2012) desenvolveram um sistema de transporte para a L-dopa, utilizando nanopartículas poliméricas (Kondrasheva *et al.*, 2012). A eficácia do sistema foi comprovada em ratinhos com doença de Parkinson, aos quais foram administradas nanopartículas de PLGA com L-dopa, por via nasal. Verificou-se uma atividade mais duradoura da L-dopa no cérebro, sugestiva de uma melhoria na recuperação da função motora (Leyva-Gómez *et al.*, 2015). Também Ngwuluka *et al.* (2011) projetaram um estudo relativo à eficácia da L-dopa quando encapsulada em nanopartículas constituídas por copolímeros do metacrilato para administração oral (Ngwuluka *et al.*, 2011). No final do estudo, os autores comprovaram que as nanopartículas permitiram a entrega e a libertação sustentada da L-dopa nos locais alvo, podendo este sistema de transporte ser utilizado para a sua administração oral (Ngwuluka *et al.*, 2011).

De forma a aumentar a eficácia do fator neurotrópico de crescimento na doença de Parkinson, este foi encapsulado em nanopartículas poliméricas de PBCA, revestidas com PEG, que foram injetadas, via intravenosa, em ratinhos com amnésia induzida pela escopolamina. Os resultados obtidos permitem aferir que estes sistemas de transporte do fator neurotrófico de crescimento não só impediram a amnésia, como melhoraram a memória e os sintomas motores (Gendelman *et al.*, 2015).

Nanopartículas lipídicas

SLN ligadas à bromocriptina, um agonista da dopamina, permitem o direcionamento e entrega do fármaco nos recetores dopaminérgicos localizados no neurónio pós-sináptico, estimulando esses recetores e aumentando a eficácia da levodopa, precursor da dopamina (Esposito *et al.*, 2008). Estudos realizados com SLN associadas à apomorfina, um agonista de recetores da dopamina, exibiram resultados muito favoráveis para a entrega da apomorfina, quando administrados por via oral, melhorando a sua biodisponibilidade e distribuição no SNC (Tsai *et al.*, 2011).

A inflamação é outro fator desencadeador da doença de Parkinson causada, por exemplo, pela ativação de citocinas pró-inflamatórias (Amor *et al.*, 2013). No sentido de atenuar este fenómeno foram desenvolvidas nanopartículas fosfolipídicas acopladas ao VPO25 (fosfatidilglicerol que consegue interagir com as células apresentadoras de antigénio), que controlam a produção de citosinas pró-inflamatórias (Crotty *et al.*, 2008). Para além disso, exercem um efeito protetor sobre o SNC, impedindo a ocorrência de apoptose, diminuindo a inflamação das células da microglia e interferindo no sistema ubiquitina-proteassoma. Este sistema consiste em uma via proteolítica envolvida na regulação da síntese proteica, sendo as proteínas que não foram formadas adequadamente eliminadas por proteossomas (Cook e Petrucelli, 2009). Como os resultados têm sido promissores, o seu desenvolvimento foi incentivado, estando, atualmente, na fase II de ensaios clínicos (Nowacek *et al.*, 2009).

Dendrímeros

A possibilidade de aplicação de dendrímeros formados por polímeros catiónicos no tratamento da doença de Parkinson tem sido investigada, uma vez que estes possuem uma elevada capacidade para inibir a agregação da α -sinucleína, uma proteína presente nos corpos de Lewy, envolvidos na origem patológica da doença de Parkinson (Newland *et al.*, 2015).

Fulerenos

Os fulerenos C60 possuem uma forte atividade antioxidante e reduzem o risco de danos no SNC causados pela presença de radicais livres (Bakry *et al.*, 2007). Para além disso, as suas propriedades físicas e químicas únicas têm motivado o seu desenvolvimento para o tratamento de doenças neurodegenerativas, nomeadamente da doença de Parkinson. Desta forma, foram produzidos fulerenos C60 associados a compostos antioxidantes, como o ácido ascórbico, adsorvidos à sua superfície, que demonstraram um elevado potencial de proteção das células neuronais, conseguindo eliminar alguns efeitos indesejados provocados pela administração de levodopa, como a neurotoxicidade (Santos *et al.*, 2008).

Derivados poli-hidroxilados de fulerenos C60 também são utilizados como neuroprotetores, uma vez que evitam danos mitocondriais oxidativos, induzidos por iões como 1-metil-4-fenilpiridina. Assim, os fulerenos possuem propriedades únicas para o tratamento da doença de Parkinson (Spuch *et al.*, 2012).

Na Tabela 4 são apresentados os resultados mais relevantes obtidos em estudos experimentais, usando novos sistemas terapêuticos, para o tratamento da doença de Parkinson.

Tabela 4: Exemplos de novos sistemas terapêuticos estudados para o diagnóstico e tratamento da doença de Parkinson.

Tipo de sistema	Mecanismo de ação/ efeito terapêutico	Referências bibliográficas
Enxertos de células embrionárias dopaminérgicas e células PC12 microencapsuladas.	Vantajosos na eliminação dos sintomas da doença de Parkinson.	(Spuch <i>et al.</i> , 2012)
Nanopartículas poliméricas contendo plasmídeos de ADN recombinante.	Suporte neurotrópico para os neurónios da dopamina.	(Yurek <i>et al.</i> , 2009)
Nanopartículas poliméricas de PLGA com nicotina.	Melhoram a viabilidade de neurónios imunorreativos, modulam os níveis de dopamina, aumentam a ativação da microglia, a expressão da glutatona-S-transferase de alfa-4 e modulam a apoptose.	(Tiwari <i>et al.</i> , 2013)
Nanopartículas poliméricas ligadas ao ácido retinóico.	Suporte, manutenção da função e redução da perda de neurónios dopaminérgicos. Aumento da expressão de fatores de transcrição.	(Esteves <i>et al.</i> , 2015) (Santos <i>et al.</i> , 2012)
Nanopartículas de quitosano contendo agonistas de dopamina.	Direcionamento e entrega do agonista da dopamina diretamente no local alvo.	(De Giglio <i>et al.</i> , 2011)
Nanopartículas poliméricas de PLGA, encapsuladas com éster metílico da levodopa e benserazida.	Melhoram a ação terapêutica da levodopa e causam uma supressão da discinesia.	(Gendelman <i>et al.</i> , 2015)
Nanopartículas poliméricas PEG-PLGA conjugadas com odorrana lectina, encapsulando urocortina.	Aumentam a entrega e os efeitos terapêuticos antiparkinsónicos do UCN no cérebro.	(Wen <i>et al.</i> , 2011)

Novos sistemas terapêuticos para a administração de fármacos utilizados no tratamento de doenças neurodegenerativas: Alzheimer e Parkinson

Nanopartículas poliméricas de copolímeros de metacrilato com L-dopa.	Entrega e a libertação sustentada da L-dopa, podendo ser utilizadas para a sua administração oral.	(Ngwuluka <i>et al.</i> , 2011) (Leyva-Gómez <i>et al.</i> , 2015)
Nanopartículas poliméricas PBCA revestidas com PEG e encapsulando o fator neurotrófico de crescimento.	Impedem a amnésia, melhoraram a memória e os sintomas motores.	(Gendelman <i>et al.</i> , 2015)
SLN ligadas à bromocriptina.	Direcionamento e entrega do agonista da dopamina diretamente no local alvo.	(Esposito <i>et al.</i> , 2008)
SLN associadas à apomorfina.	Melhoram a biodisponibilidade e distribuição no SNC da apomorfina, quando administradas por via oral.	(Tsai <i>et al.</i> , 2011)
Nanopartículas fosfolipídicas acopladas ao VPO25.	Controlam a produção de citosinas pró-inflamatórias e exercem um efeito protetor sobre o SNC.	(Amor <i>et al.</i> , 2013) (Crotty <i>et al.</i> , 2008) (Cook e Petrucelli, 2009) (Nowacek <i>et al.</i> , 2009)
Dendrímeros catiónicos.	Inibem a agregação da α -sinucleína, proteína presente nos corpos de Lewy.	(Newland <i>et al.</i> , 2015)
Fulerenos C60.	Forte atividade antioxidante, reduzindo o risco de danos no SNC causados pela presença de radicais livres.	(Bakry <i>et al.</i> , 2007)
Fulerenos C60 com ácido ascórbico adsorvido à superfície.	Proteção das células neuronais, conseguindo eliminar alguns efeitos indesejados da levodopa.	(Santos <i>et al.</i> , 2008)
Derivados poli-hidroxilados de fulerenos C60.	Neuroprotetores, evitando danos mitocondrias oxidativos.	(Spuch <i>et al.</i> , 2012)

5. Conclusão

A realização deste trabalho de revisão bibliográfica permitiu constatar que, atualmente, as doenças que afetam o SNC são um problema de saúde pública que afeta cada vez mais a população, sendo os seus efeitos devastadores, com uma taxa de morbidade e mortalidade associada bastante elevada.

Incluídas nas doenças do SNC, as doenças neurodegenerativas, nomeadamente a doença de Alzheimer e a doença de Parkinson, que constituem condições neurológicas progressivas e degenerativas, são as mais preocupantes tanto pelos problemas que desencadeiam aos doentes, tornando-os cada vez mais dependentes de outrem, inconscientes e isolados do mundo e das pessoas que os rodeiam e, por isso, com baixa qualidade de vida, como pela dificuldade de tratamento, não existindo uma cura eficaz.

Os tratamentos atualmente existentes e disponíveis no mercado são efetuados com fármacos cujo mecanismo de ação permite o alívio dos sintomas, como por exemplo, diminuição dos estados depressivos e ansiosos, das dificuldades motoras, do esquecimento, da confusão e das alucinações. Porém, algumas condições patológicas associadas a estas doenças não são minimizadas com os tratamentos. Como exemplos destas temos a degeneração das células neuronais, a perda da capacidade de produção do neurotransmissor dopamina, no caso da doença de Parkinson, e a deterioração das funções cognitivas e perda de memória, por diminuição do neurotransmissor acetilcolina, no caso da doença de Alzheimer. Verifica-se, então, uma diminuição do número de células neuronais com consequente perda das funções fisiológicas, cognitivas, intelectuais e, numa fase final, aparecimento de demência.

A complexidade da organização e da estrutura cerebral, assim como, a existência de barreiras fisiológicas, como a BHE e a barreira sangue-LCR, tornam a entrega de fármacos diretamente no SNC impossível ou possível apenas em concentrações reduzidas, inviabilizando a eficácia da terapêutica. Desta forma, várias alternativas aos fármacos tradicionais têm sido desenvolvidas, com o intuito de ultrapassar esta dificuldade.

Nanopartículas (poliméricas, lipídicas e metálicas), micropartículas, dendrímeros, micelas, fulerenos e lipossomas demonstraram ser capazes de carregar e transportar fármacos até ao cérebro, através da BHE, na sua forma ativa e intata, libertando-os de modo controlado, para que exerçam a sua ação eficazmente e de forma prolongada. As suas reduzidas dimensões, bem como as suas propriedades físicas, químicas e estruturais únicas, que possibilitam a sua ligação a fármacos com características hidrófilas ou lipófilas, torna-os novos sistemas terapêuticos passíveis de serem utilizados para o diagnóstico e tratamento das doenças neurodegenerativas, incentivando vários investigadores a continuar o seu desenvolvimento

É importante referir que, apesar de todas as vantagens apresentadas, estes novos sistemas terapêuticos continuam sobre o olhar atento da comunidade científica, que procura o seu aperfeiçoamento e evolução apropriado para uma administração segura e eficaz nos humanos. Os progressos que se têm feito notar nesta área tornam a possibilidade do seu emprego muito desejada e requerida, especialmente para o tratamento de doenças sem cura, como a doença de Alzheimer e de Parkinson.

6. Referências bibliográficas

- Abuirmeileh, A., *et al.* (2007). The corticotrofin- releasing factor- like peptide urocortin reverses key deficits in two rodent models of Parkinson's disease. *European Journal of Neuroscience*, 26, pp. 417-423.
- Alyautdin, R., *et al.* (2014). Nanoscale drug delivery systems and the blood-brain barrier. *International journal of nanomedicine*, 9, pp. 795-811.
- Amor, S., *et al.* (2013). Inflammation in neurodegenerative diseases-an update. *Immunology*, 142, pp. 151-166.
- Anazetti, M. C. e Melo, P. C. S. (2007). Morte Celular por Apoptose: uma visão bioquímica e molecular. *Metrocamp pesquisa*, 1(1), pp. 37-58.
- Bakry, R., *et al.* (2007). Medicinal applications of fullerenes. *International journal of nanomedicine*, 2(4), pp. 639–649.
- Bartolomeo, P. (2011). The quest for the 'critical lesion site' in cognitive deficits: problems and perspectives. *Cortex*, 47, pp. 1010-1012.
- Batrakova, E. V., *et al.* (2007). A macrophage-nanozyme delivery system for Parkinson's disease. *Bioconjugate chemistry*, 18(5), pp. 1498-1506.
- Beales, P. A. e Vanderlick, T. K. (2014). Application of nucleic acid lipid conjugates for the programmable organisation of liposomal modules. *Advances in colloid and interface science*, 207, pp. 290-305.
- Bei, D.; Meng, J. e Youan, B.-B. C. (2010). Engineering nanomedicines for improved melanoma therapy: progress and promises. *Nanomedicine*, 5(9), pp. 1385-1399.
- Bhujbal, S. V.; De Vos, P. e Niclou, S. P. (2014). Drug and cell encapsulation: alternative delivery options for the treatment of malignant brain tumors. *Advanced drug delivery reviews*, 67, pp. 142-153.
- Bondi, M., *et al.* (2009). Ferulic acid-loaded lipid nanostructures as drug delivery systems for Alzheimer's disease: Preparation, characterization and cytotoxicity studies. *Current Nanoscience*, 5(1), pp. 26-32.
- Buga, A.M., *et al.* (2011). Brain aging and regeneration after injuries: an organismal approach. *Aging and disease*, 2(1), pp. 64-79.

- Cervia, D. e Bagnoli, P. (2007). An update on somatostatin receptor signaling in native systems and new insights on their pathophysiology. *Pharmacology & therapeutics*, 116, pp. 322-341.
- Cheng, K. K., *et al.* (2015). Curcumin-conjugated magnetic nanoparticles for detecting amyloid plaques in Alzheimer's disease mice using magnetic resonance imaging (MRI). *Biomaterials*, 44, pp. 155-172.
- Chintagumpala, M. e Gajjar, A. (2015). Brain Tumors. *Pediatric clinics of North America*, 62, pp. 167-178.
- Connolly, B. S. e Lang, A. E. (2014). Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. *JAMA*, 311(16), pp. 1670-1683.
- Cook, C. e Petrucelli, L. (2009). A critical evaluation of the ubiquitina - proteasome system in Parkinson's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Molecular Basis of Disease*, 1792, pp. 664-675.
- Costantino, L.; Boraschi, D. e Eaton, M. (2014). Challenges in the Design of Clinically Useful Brain-targeted Drug Nanocarriers. *Current medicinal chemistry*, 21(37), pp. 4227-4246.
- Crotty, S., *et al.* (2008). Neuroprotective effects of novel phosphatidylglycerol-based phospholipids in the 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *European Journal of Neuroscience*, 27, pp. 294-300.
- Da Silva Correia, M. D. G. A., *et al.* (2013). Doença de Parkinson: uma desordem neurodegenerativa. *Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT*, 1(16), pp. 57-65.
- De Giglio, E., *et al.* (2011). Dopamine-loaded chitosan nanoparticles: formulation and analytical characterization. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 400, pp. 1997-2002.
- De Oliveira, M. R., *et al.* (2007). Vitamin A supplementation induces a prooxidative state in the striatum and impairs locomotory and exploratory activity of adult rats. *Brain Research*, 1169, pp. 112-119.
- Denora, N., *et al.* (2009). Recent advances in medicinal chemistry and pharmaceutical technology--strategies for drug delivery to the brain. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 9(2), pp. 182-196.

Dzamko, N., *et al.* (2014). Parkinson's disease-implicated kinases in the brain; insights into disease pathogenesis. *Frontiers in molecular neuroscience*, 7, pp. 57.

Esposito, E., *et al.* (2008). Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bromocriptine. *Pharmaceutical research*, 25(7), pp. 1521-1530.

Esteves, M., *et al.* (2015). Retinoic acid-loaded polymeric nanoparticles induce neuroprotection in a mouse model for Parkinson's disease. *Frontiers in aging neuroscience*, 7.

Ferro, J. e Pimentel, J. (2013). *Neurologia fundamental: Princípios, Diagnóstico e Tratamento*. 2ª ed. Lisboa, Lidel.

Ferry, B.; Gervasoni, D. e Vogt, C. (2014). Elements of Descriptive Neuroanatomy. In: Ferry, B.; Gervasoni, D. e Vogt, C. (Ed). *Stereotaxic Neurosurgery in Laboratory Rodent*. Paris, Springer, pp. 19-35.

Finsterer, J., *et al.* (2012). Mimicry between mitochondrial disorder and multiple sclerosis. *Metabolic Brain Disease*, 27, pp. 217-220.

Fonseca-Santos, B.; Gremião, M. P. D. e Chorilli, M. (2015). Nanotechnology-based drug delivery systems for the treatment of Alzheimer's disease. *International journal of nanomedicine*, 10, pp. 4981-5003.

Formariz, T. P., *et al.* (2004). Biotecnologia de sistemas coloidais aplicável na otimização do efeito terapêutico de fármacos usados no tratamento do câncer. *Infarma*, 16 (1-2).

Gendelman, H. E., *et al.* (2015). Nanoneuromedicines for degenerative, inflammatory, and infectious nervous system diseases. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 11, pp. 751-767.

Giorgio, S. (2014). Autofagia celular em processos patológicos. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, 35 (1), pp. 125-136.

Goyal, K., *et al.* (2014). Targeted Drug Delivery to Central Nervous System (CNS) for the Treatment of Neurodegenerative Disorders: Trends and Advances. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*, 14(1), pp. 43-59.

Gupta, A. K. e Gupta, M. (2005). Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 26, pp. 3995-4021.

- Heffernan, C., *et al.* (2012). Design and screening of a glial cell-specific, cell penetrating peptide for therapeutic applications in multiple sclerosis. *PLoS One*, 7(9), e45501-e45501.
- Hirao, K.; Pontone, G. M. e Smith, G. S. (2015). Molecular imaging of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 49, pp. 157-170.
- Hwang, S. R. e Kim, K. (2014). Nano-enabled delivery systems across the blood-brain barrier. *Archives of pharmacal research*, 37, pp. 24-30.
- Indira, T. e Lakshmi, P. (2010). Magnetic nanoparticles a review. *Int. J. Pharm. Sci. Nanotechnol*, 3(3), pp. 1035-1042.
- Iqbal, K., *et al.* (2015). Brain Gliomas CT-MRI Image Fusion for Accurate Delineation of Gross Tumor Volume in Three Dimensional Conformal Radiation Therapy. *OMICS J Radiol*, 4(2), pp. 2.
- Kesharwani, P.; Jain, K. e Jain, N. K. (2014). Dendrimer as nanocarrier for drug delivery. *Progress in Polymer Science*, 39, pp. 268-307.
- Kondrasheva, I., *et al.* (2012). Efficacy and Safety of Nasal Administration of “Na-no-L-DOPA” Based on PLGA Nanoparticles. *Engineering*, 4(10), pp. 27.
- Kreuter, J. (2014). Drug delivery to the central nervous system by polymeric nanoparticles: what do we know?. *Advanced drug delivery reviews*, 71, pp. 2-14.
- Laurent, S., *et al.* (2008). Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chemical reviews*, 108(6), pp. 2064-2110.
- Lana, J., *et al.* (2014). Introdução à nanotecnologia: Grafeno. *Blucher Physics Proceedings*, 1, pp. 7-8.
- Leist, T., *et al.* (2014). Novel therapeutics in multiple sclerosis management: clinical applications. *The American journal of medicine*, 127 (1), pp. S2.
- Leyva-Gómez, G., *et al.* (2015). Nanoparticle technology for treatment of Parkinson's disease: the role of surface phenomena in reaching the brain. *Drug discovery today*.

- Li, J., *et al.* (2011). Targeting the brain with PEG-PLGA nanoparticles modified with phage-displayed peptides. *Biomaterials*, 32, pp. 4943-4950.
- Liu, G., *et al.* (2006). Nanoparticle iron chelators: a new therapeutic approach in Alzheimer disease and other neurologic disorders associated with trace metal imbalance. *Neuroscience letters*, 406, pp. 189-193.
- Liu, G., *et al.* (2009). Nanoparticle chelator conjugates as inhibitors of amyloid- β aggregation and neurotoxicity: a novel therapeutic approach for Alzheimer disease. *Neuroscience letters*, 455, pp. 187-190.
- Longo, Dan L., *et al.* (2013). *Manual de Medicina de Harrison*. 18^aed. Porto Alegre, AMGH.
- Lopes, C. e Souto, E. (2011). Nanopartículas lipídicas. In: Silva, A., Martins, S., Santos, D., Ferreira, D. e Souto, E. (Ed). *Novas Formas Farmacêuticas Para Administração De Fármacos*. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa, pp. 297-301.
- Maia, J., *et al.* (2011). Controlling the neuronal differentiation of stem cells by the intracellular delivery of retinoic acid-loaded nanoparticles. *ACS nano*, 5(1), pp. 97-106.
- Maleki, H., *et al.* (2012). Size-controlled synthesis of superparamagnetic iron oxide nanoparticles and their surface coating by gold for biomedical applications. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 324, pp. 3997-4005.
- Mancia, G. e Grassi, G. (2014). The autonomic nervous system and hypertension. *Circulation research*, 114(11), pp. 1804-1814.
- Mansueto, P., *et al.* (2012). Multiple sclerosis-like neurological manifestations in a coeliac patient: nothing is as it seems. *BMJ Case Reports*, 2012.
- Mathew, A., *et al.* (2012). Curcumin loaded-PLGA nanoparticles conjugated with Tet-1 peptide for potential use in Alzheimer's disease. *PLoS One*, 7(3), pp. e32616- e32616.
- Mehndiratta, P.; Smith, S. C. e Worrall, B. B. (2015). Etiologic stroke subtypes: updated definition and efficient workup strategies. *Current treatment options in cardiovascular medicine*, 17, pp. 1-11.
- Mehnert, W. e Mäder, K. (2001). Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. *Advanced drug delivery reviews*, 47, pp. 165-196.

- Merisko-Liversidge, E. e Liversidge, G. G. (2011). Nanosizing for oral and parenteral drug delivery: a perspective on formulating poorly-water soluble compounds using wet media milling technology. *Advanced drug delivery reviews*, 63, pp. 427-440.
- Mikitsh, J. L. e Chacko, A. M. (2014). Pathways for small molecule delivery to the central nervous system across the blood-brain barrier. *Perspectives in medicinal chemistry*, 6, pp. 11-24.
- Mozaffarian, D., *et al.* (2015). Heart disease and stroke statistics-2015 update: a report from the american heart association. *Circulation*, 131, pp. e29-e322.
- Müller, R. H.; Mader, K. e Gohla, S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery-a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1), pp. 161-177.
- Müller, R. H.; Radtke, M. e Wissing, S. A. (2002). Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Advanced drug delivery reviews*, 54, pp. S131-S155.
- Munhoz, R. P.; Cerasa, A. e Okun, M. S. (2014). Surgical treatment of dyskinesia in Parkinson's disease. *Frontiers in neurology*, 5, pp. 65.
- Nesterenko, A., *et al.* (2013). Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. *Industrial crops and products*, 42, pp. 469-479.
- Neukomm, L. J. e Freeman, M. R. (2014). Diverse cellular and molecular modes of axon degeneration. *Trends in cell biology*, 24(9), pp. 515-523.
- Newland, B., *et al.* (2015). Prospects for polymer therapeutics in Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders. *Progress in Polymer Science*, 44, pp. 79-112.
- Ngwuluka, N. C., *et al.* (2011). Fabrication, modeling and characterization of multi-crosslinked methacrylate copolymeric nanoparticles for oral drug delivery. *International journal of molecular sciences*, 12(9), pp. 6194-6225.
- Nowacek, A.; Kosloski, L. M. e Gendelman, H. E. (2009). Neurodegenerative disorders and nanoformulated drug development. *Nanomedicine (Lond)*, 4(5), pp. 541-555.

- Ntaios, G., *et al.* (2015). Poor Stroke Risk Perception despite Moderate Public Stroke Awareness: Insight from a Cross-sectional National Survey in Greece. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 24(4), pp. 721-724.
- Nygaard, H. B.; Van Dyck, C. H. e Strittmatter, S. M. (2014). Fyn kinase inhibition as a novel therapy for Alzheimer's disease. *Cell proliferation*, 5, pp. 7.
- Patel, M.; Souto, E. B. e Singh, K. K. (2013). Advances in brain drug targeting and delivery: limitations and challenges of solid lipid nanoparticles. *Expert opinion on drug delivery*, 10(7), pp. 889-905.
- Pereira, J. A. N. M. (2012). Fullerenos: uma breve revisão. *Exacta*, 10(2), pp. 269-280.
- Prusiner, S. B. (2012). Cell biology. A unifying role for prions in neurodegenerative diseases. *Science (New York, NY)*, 336, pp. 1511.
- Re, F.; Gregori, M. e Masserini, M. (2012). Nanotechnology for neurodegenerative disorders. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 8, pp. S51-S58.
- Rodríguez-Rodríguez, C.; Telpoukhovskaia, M. e Orvig, C. (2012). The art of building multifunctional metal-binding agents from basic molecular scaffolds for the potential application in neurodegenerative diseases. *Coordination Chemistry Reviews*, 256, pp. 2308-2332.
- Ruan, L., *et al.* (2014) Neurogenesis in neurological and psychiatric diseases and brain injury: from bench to bedside. *Progress in Neurobiology*, 115, pp. 116-137.
- Santos, S., *et al.* (2008). Adsorption of ascorbic acid on the C60 fullerene. *The Journal of Physical Chemistry B*, 112(45), pp. 14267-14272.
- Santos, T., *et al.* (2012). Polymeric nanoparticles to control the differentiation of neural stem cells in the subventricular zone of the brain. *ACS nano*, 6, pp. 10463-10474.
- Sarin, H. (2010). Overcoming the challenges in the effective delivery of chemotherapies to CNS solid tumors. *Therapeutic delivery*, 1(2), pp. 289-305.
- Sarkar, S., *et al.* (2012). Polymer-supported metals and metal oxide nanoparticles: synthesis, characterization, and applications. *Journal of Nanoparticle Research*, 14, pp. 1-24.

Schneider, A. R. e Sari, Y. (2014). Therapeutic perspectives of drugs targeting Toll-like receptors based on immune physiopathology theory of Alzheimer's disease. *CNS & neurological disorders drug targets*, 13(5), pp. 909-920.

Seeley, R., Stephens, T. e Tate, P. (2005). *Anatomia e Fisiologia*. 6ªed. Loures, Lusociência.

Silva, A., *et al.* (2013). Current progresses on nanodelivery systems for the treatment of neuropsychiatric diseases: Alzheimer's and Schizophrenia. *Current pharmaceutical design*, 19.

Silva, A., *et al.* (2012). Lipid-based nanocarriers as an alternative for oral delivery of poorly water-soluble drugs: peroral and mucosal routes. *Current medicinal chemistry*, 19.

Skaat, H., *et al.* (2009). Effect of maghemite nanoparticles on insulin amyloid fibril formation: selective labeling, kinetics, and fibril removal by a magnetic field. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 91, pp. 342-351.

Sood, S.; Jain, K. e Gowthamarajan, K. (2013). Curcumin-donepezil-loaded nanostructured lipid carriers for intranasal delivery in an Alzheimer's disease model. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 4, pp. P299.

Spuch, C.; Saida, O., & Navarro, C. (2012). Advances in the treatment of neurodegenerative disorders employing nanoparticles. *Recent patents on drug delivery & formulation*, 6(1), pp. 2-18.

Stayte, S. e Vissel, B. (2014). Advances in non-dopaminergic treatments for Parkinson's disease. *Frontiers in neuroscience*, 8, pp. 113.

Sun, C.; Lee, J. S. e Zhang, M. (2008). Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 60, pp. 1252-1265.

Teixeira, J.; Feio, M. e Figueira, M. L. S. (2014). O Papel do Stress Oxidativo no Envelhecimento e na Demência. *Psilogos*, 12(1), pp. 43-57.

Tiwari, M. N., *et al.* (2013). Nicotine-encapsulated poly (lactic-co-glycolic) acid nanoparticles improve neuroprotective efficacy against MPTP-induced parkinsonism. *Free Radical Biology and Medicine*, 65, pp. 704-718.

- Tsai, M. J., *et al.* (2011). Oral apomorphine delivery from solid lipid nanoparticles with different monostearate emulsifiers: pharmacokinetic and behavioral evaluations. *Journal of pharmaceutical sciences*, 100(2), pp. 547-557.
- Upadhyay, R. K. (2014). Drug delivery systems, CNS protection, and the blood brain barrier. *BioMed research international*, 2014.
- Viscomi, M. T. e Molinari, M. (2014) Remote neurodegeneration: multiple actors for one play. *Molecular neurobiology*, 50, pp. 368-389.
- Voltarelli, F. C. A.; Mello, M. A. R. D. e Duarte, J. A. R. (2008). Apoptose e exercício físico: efeitos sobre o músculo esquelético. *Rev. bras. cineantropom. desempenho hum*, 10.
- Wang, Z. L. (2004). Nanostructures of zinc oxide. *Materials today*, 7, pp. 26-33.
- Wen, Z., *et al.* (2011). Odorranalectin-conjugated nanoparticles: preparation, brain delivery and pharmacodynamic study on Parkinson's disease following intranasal administration. *Journal of controlled release*, 151, pp. 131-138.
- Wingerchuk, D. M. e Carter, J. L. (2014). Multiple sclerosis: current and emerging disease-modifying therapies and treatment strategies. *Mayo Clinic Proceedings*, 89(2), pp. 225-240.
- Wissing, S.; Kayser, O. e Müller, R. (2004). Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 56, pp. 1257-1272.
- Wong, H. L.; Wu, X. Y. e Bendayan, R. (2012). Nanotechnological advances for the delivery of CNS therapeutics. *Advanced drug delivery reviews*, 64, pp. 686-700.
- Yang, Z.-Z., *et al.* (2013). Enhanced brain distribution and pharmacodynamics of rivastigmine by liposomes following intranasal administration. *International journal of pharmaceuticals*, 452, pp. 344-354.
- Youdim, M. B., *et al.* (2014). Promises of novel multi-target neuroprotective and neurorestorative drugs for Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*, 20, pp. S132-S136.

Yurek, D. M., *et al.* (2009). Compacted DNA nanoparticle gene transfer of GDNF to the rat striatum enhances the survival of grafted fetal dopamine neurons. *Cell transplantation*, 18(10), pp. 1183-1196.

Yusuf, M., *et al.* (2013). Preparation, characterization, in vivo and biochemical evaluation of brain targeted Piperine solid lipid nanoparticles in an experimentally induced Alzheimer's disease model. *Journal of drug targeting*, 21(3), pp. 300-311.

Zhang, C., *et al.* (2014). Dual-functional nanoparticles targeting amyloid plaques in the brains of Alzheimer's disease mice. *Biomaterials*, 35, pp. 456-465.

Zhang, C., *et al.* (2014). Intranasal nanoparticles of basic fibroblast growth factor for brain delivery to treat Alzheimer's disease. *International journal of pharmaceutics*, 461, pp. 192-202.

Zolezzi, J. M., *et al.* (2014). Alzheimer's disease: relevant molecular and physiopathological events affecting amyloid-beta brain balance and the putative role of PPARs. *Frontiers in aging neuroscience*, 6.