

Joana Alves Sequeira

TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER: NA ATUALIDADE E NO
FUTURO

Universidade Fernando Pessoa – Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2020

Joana Alves Sequeira

TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER: NA ATUALIDADE E NO
FUTURO

Universidade Fernando Pessoa – Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2020

Joana Alves Sequeira

TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER: NA ATUALIDADE E NO
FUTURO

*Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas.
Atesto a originalidade do trabalho,*

(Joana Alves Sequeira)

Porto, 2020

Resumo

A doença de Alzheimer representa uma das principais causas de morbidade a nível mundial. É o tipo de demência com maior prevalência globalmente, cuja incidência tem aumentado devido ao envelhecimento populacional.

Apesar dos avanços tecnológicos no diagnóstico e da constante investigação nesta área, a procura de um tratamento curativo constitui um dos maiores desafios da atualidade, na área da saúde. As estratégias atuais para o tratamento da doença de Alzheimer têm como principal alvo a sintomatologia, retardando apenas o desenvolvimento desta patologia. Assim, tendo em conta estas limitações, várias equipas de investigação reúnem esforços na busca de terapêuticas modificadoras da doença que atuem nos principais processos fisiopatológicos.

A presente dissertação tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica relativamente ao tratamento atual na doença de Alzheimer e das perspetivas futuras, realçando os novos compostos em estudo, baseados na investigação diferencial que surgiu nos últimos anos e que têm como objetivo ultrapassar as limitações atuais e suprir a necessidade de novas terapêuticas modificadoras da doença.

Palavras-Chave: Doença de Alzheimer; Tratamento da Doença de Alzheimer; Demência; Amiloide β ; Proteína Tau; Terapêuticas Modificadoras da Doença de Alzheimer

Abstract

Alzheimer's disease represents one of the leading causes of morbidity worldwide. It's the type of dementia with the biggest prevalence globally, and the incidence has increased due to the aging population.

Despite technological advances in diagnosis and constant research in this area, the search for a curative treatment is one of the biggest challenges in the health area today. Current strategies for the treatment of Alzheimer's disease have as their main target symptomatology, delaying only the development of this pathology. Thus, taking into account these limitations, several research teams join forces in the search for disease-modifying therapies that act in the main pathophysiological processes.

The present dissertation aims to carry out a bibliographic review in relation to the current treatment in Alzheimer's disease and future perspectives, highlighting the new compounds under study, based on the differential research that has emerged in recent years and which aim to overcome current limitations and supply the need for new disease-modifying therapies.

Keywords: Alzheimer's Disease; Alzheimer's Disease Treatment; Dementia; β -Amyloid; Tau Protein; Disease modifying therapies.

Agradecimentos

Primeiramente, gostaria de agradecer aos meus pais pela oportunidade que me ofereceram de realizar um sonho, pela confiança que depositaram em mim, pela disponibilidade e pela liberdade e compreensão em cada decisão tomada neste percurso.

Ao meu irmão, pai e mãe, pelo apoio incondicional.

Ao meu namorado, por acreditar em mim, pelo apoio incansável, pela paciência e pela compreensão em todos os momentos.

Às colegas de curso e amigas, que percorreram comigo este caminho, por todo o companheirismo, alegria e motivação.

Por último, um especial agradecimento ao Professor Doutor Sérgio Gonçalves, pela disponibilidade, orientação e acompanhamento na elaboração desta dissertação.

A todos, mais uma vez, obrigada.

Índice	
Resumo	V
Abstract	VI
Agradecimentos	VII
Abreviaturas	XII
Índice de Figuras	XV
Índice de Tabelas	XVI
I. Introdução	1
1.1. Materiais e Métodos	3
II. Desenvolvimento	4
1. Doença de Alzheimer	4
1.1. Epidemiologia	4
1.2. Evolução da Doença: de Déficit Cognitivo Ligeiro a Demência.....	5
1.3. Fisiopatologia	6
1.3.1. Amiloide β	6
1.3.2. Proteína Tau.....	9
1.3.3. Fatores Genéticos	10
1.4 Manifestações Clínicas	12

1.5	Diagnóstico	12
2.	Tratamento na Doença de Alzheimer	13
2.1	Medidas Psicoterapêuticas	13
2.2	Tratamento Farmacológico.....	14
2.2.1	Inibidores da Colinesterase.....	14
2.2.1.1	Tacrina	15
2.2.1.2	Donepezilo.....	15
2.2.1.3	Rivastigmina.....	16
2.2.1.4	Galantamina.....	16
2.2.2	Antagonista do Recetor NMDA	16
2.2.2.1	Memantina	17
2.2.3	Terapia de Combinação	17
2.3	Novos Tratamentos Farmacológicos	18
2.3.1	Terapêutica modificadora A β	18
2.3.1.1	Imunoterapia Ativa	19
a.	AN-1792	19
b.	Vanutide	19
2.3.1.2	Imunoterapia Passiva	19

a.	Bapineuzumab	20
b.	Solanezumab.....	20
c.	Crenezumab	20
d.	Gantenerumab.....	21
e.	Donanemab	21
f.	BAN2401	21
2.3.1.3.	Inibidores da β -secretase	21
2.3.1.4.	Inibidores da γ -secretase.....	22
2.3.1.5.	Moduladores da γ -secretase.....	23
a.	AINE's.....	23
2.3.2	Terapêutica modificadora proteína tau	24
2.3.2.1	Tideglusib	24
2.3.2.2	Imunoterapia.....	24
a.	Imunoterapia ativa	24
b.	Imunoterapia passiva	25
2.3.2.3	Oligonucleótidos antisense	25
2.3.3.	ApoE.....	26
2.3.3.1.	Correção da estrutura da ApoE.....	27

2.3.3.2. Aumentar a lipidação da ApoE.....	27
a. Bexaroteno.....	28
2.3.3.3. Depuração de ApoE não lipídada	28
III Conclusão.....	31
IV Bibliografia	33

Abreviaturas

A β - Proteína β -amiloide

ACh- Acetilcolina

AChE- Acetilcolinesterase

ADF- Associação de fármacos em dose fixa

AINE's- Anti-inflamatórios não esteroides

AMPA- Alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico

Aph1- Anterior faringe defeituoso 1

ApoE- Apolipoproteína E

ASOs- Oligonucleótidos antisense

ATP- Adenosina trifosfato

BACE1- β -secretase 1

BChE- Butirilcolinesterase

Ca²⁺- Ião Cálcio

CDK5- Quinase dependente de ciclina 5

COX-1- Clico-oxigenase 1

CTF- fragmento terminal ligado à membrana

DA- Doença de Alzheimer

DPOC- Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica

FDA- Food and Drug Administration

GSK-3 β - Glicogénio sintase-cinase 3 β

IDE- Enzima de degradação da insulina

Ig- Imunoglobulina

LCR- Líquido Cefalorraquidiano

LRP1- Recetor da lipoproteína de baixa densidade

MAPT- proteínas associadas aos microtúbulos

MCI- Défice cognitivo ligeiro (do inglês Mild Cognitive Impairment)

MMP- Metaloproteínases de matriz

MMSE- Mini-Mental Status Examination

MoCA- Montreal Cognitive Assessment

NFTs - Emaranhados Neurofibrilares

NIA- National Institute on Ageing

NMDA- N-metil-D-aspartato

Pen-2- Potenciador da presenilina 2

PET- Tomografia por Emissão de Positrões

PPA- Proteína Percursora Amilóide

PSEN1- Presenilina 1

PSEN2- Presenilina 2

PSP- Paralisia Supranuclear Progressiva

RCT - Ensaio Randomizado

RXR- Recetor retinoide X

SNC- Sistema Nervoso Central

sPPA α - Proteína precursora amiloide solúvel associada a α -secretase

sPPA β - Proteína precursora amiloide solúvel associada a β -secretase

VLDR- Recetores de lipoproteína de muito baixa densidade

WHO- Organização Mundial de Saúde

Índice de Figuras

Figura 1. Proteólise da PPA: Via não-amiloidogénica.....	7
Figura 2. Proteólise da PPA: Via amiloidogénica.....	8

Índice de Tabelas

Tabela 1- Fase atual de desenvolvimento dos novos fármacos modificadores da doença de Alzheimer.....	29
---	----

I. Introdução

Atualmente, a Organização Mundial de Saúde (WHO) aponta a demência como a 5ª principal causa de morte, representando um preocupante problema de saúde pública, a nível mundial (Greenblat, 2019).

Mais de 90% das demências ocorrem em indivíduos com idade superior a 65 anos, sendo a idade avançada, o principal fator de risco desta patologia. Com o aumento contínuo da esperança média de vida da população, principalmente nos países desenvolvidos, a prevalência desta patologia tende a aumentar (Elahi e Miller, 2017).

A população, cada vez mais envelhecida, é alvo de alterações biológicas que a tornam mais frágil. Esta fragilidade, não só perceptível a nível físico, como também cognitivo, evolui muitas vezes para um défice cognitivo ligeiro, ou seja, uma deterioração a nível da memória e da capacidade de atenção, em relação ao esperado para essa idade. Este défice assenta entre as alterações cognitivas associadas à idade e a demência (Jongsiriyanyong e Limpawattana, 2018; Tangalos e Petersen, 2018).

A demência define-se como um declínio progressivo na capacidade cognitiva de um indivíduo, com interferência nas atividades da vida diária. Este declínio pode estar associado a diversos processos fisiopatológicos, sendo o mais comum a Doença de Alzheimer (DA). Outras formas de demência incluem (1) a demência vascular, (2) demência por corpos de Lewy e (3) a demência frontotemporal (Cunningham *et al.*, 2015; Cummings *et al.*, 2019).

A DA foi descrita pela primeira vez por Alois Alzheimer em 1907 (Bondi *et al.*, 2017). Clinicamente, manifesta-se com uma debilitação inicial na capacidade de memória, que vai progredindo lentamente, e com o comprometimento na realização das atividades do dia a dia (Scheltens *et al.*, 2016).

Para além da idade, outros fatores de risco para o desenvolvimento deste tipo de demência são os fatores genéticos, onde se salienta o alelo da apolipoproteína E (ApoE), fatores associados ao risco cardiovascular e, por último, fatores associados ao estilo de vida (Elahi e Miller, 2017).

Fisiopatologicamente, observam-se alterações da estrutura cerebral como a atrofia do córtex cerebral e uma dilatação dos ventrículos (Fauci *et al.*, 2011).

Desde a descoberta da DA que vários esforços têm sido reunidos na tentativa de compreender todos os seus mecanismos fisiopatológicos. Atualmente, consideram-se a Proteína Tau, associada aos emaranhados neurofibrilares (NFTs), e o Amiloide β ($A\beta$), o principal constituinte das placas extracelulares, como as duas principais moléculas responsáveis por estes mecanismos fisiopatológicos (Aisen *et al.*, 2017; Congdon e Sigurdsson, 2018).

A proteína Tau inclui-se na família de proteínas associadas aos microtúbulos (MAPT). Estas são responsáveis pela estabilização do processo de formação dos microtúbulos, que representam um dos três filamentos proteicos que compõem o citoesqueleto. Na DA ocorre uma fosforilação anormal da proteína tau levando à sua agregação e deposição nos filamentos pareados em forma de hélice com consequente formação de emaranhados neurofibrilares que são um dos responsáveis pela neurodegeneração (Jouanne *et al.*, 2017).

As placas amilóides são formadas devido a uma alteração na clivagem realizada pelas β e γ -secretase que resulta num seccionamento errado da proteína precursora amilóide (PPA), originando fibrilas de β -amiloide que são insolúveis. Este amiloide- β deposita-se em placas, interferindo com a integridade sináptica, com consequente neurodegeneração (Arbor *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2018).

No que diz respeito ao tratamento farmacológico da DA, é de notar que para além de fármacos que visam aliviar temporariamente a sintomatologia, não existe efetivamente um tratamento com objetivo curativo da doença nem com foco nos seus processos neurodegenerativos (Arbor *et al.*, 2016; Van Cauwenberghe *et al.*, 2016).

Assim, as classes de fármacos prescritas com foco na sintomatologia, que têm como premissa o adiamento da deterioração cognitiva, são apenas duas: os inibidores da colinesterase, que inclui o Donepezil, a Rivastigmina e a Galantamina, e um antagonista do recetor N-metil-D-aspartato (NMDA), a Memantina. (Briggs *et al.*, 2016)

A investigação que é desenvolvida atualmente tem como objetivos o melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicos e da relação entre estes, para que desta forma seja exequível o desenvolvimento de um tratamento com fim curativo ou que leve a uma alteração no curso da doença, tendo como principal desafio a complexidade desta patologia (Cummings *et al.*, 2019).

A presente dissertação tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica relativamente ao tratamento atual na doença de Alzheimer e das perspetivas futuras, realçando os novos fármacos em estudo, baseados na investigação diferencial que surgiu nos últimos anos e que têm como objetivo ultrapassar as limitações atuais e suprir a necessidade de novas terapêuticas modificadoras da doença.

1.1. Materiais e Métodos

Para a elaboração deste trabalho de revisão foi executada uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados *PubMed/Medline* e *Science Direct*, recorrendo às seguintes palavras-chave em múltiplas combinações: “*Alzheimer’s Disease*”; “*Alzheimer’s Treatment*”; “*Amyloid beta*”; “*Tau protein*”; “*Dementia*”. Foram incluídos artigos publicados nos últimos 5 anos (2015 – 2020), em língua inglesa, portuguesa e castelhano. A pesquisa englobou artigos de revisão narrativa e sistemática e casos clínicos. Foram excluídos os artigos que não atendiam ao objetivo do trabalho.

Ao todo foram identificados 210 artigos, dos quais foram selecionados 60 que se mostraram mais pertinentes para o tema.

II. Desenvolvimento

1. Doença de Alzheimer

1.1. Epidemiologia

A Organização Mundial de Saúde (WHO) reconhece a demência como um problema de saúde pública, notado como a 5ª principal causa de morte a nível mundial. Cerca de 50 milhões de pessoas globalmente sofrem de demência, sendo a DA responsável por 60% a 70% dos casos, no entanto este número tende a ser mais elevado, tendo em conta o crescente reconhecimento que a doença surge décadas antes de ser detetada sintomatologia. A cada ano há, aproximadamente, 10 milhões de novos casos (Selkoe e Hardy, 2016; Greenblat, 2019).

A DA é entendida como uma doença de enorme complexidade, não é possível defini-la como um conjunto de mecanismos fisiopatológicos simples, e é desta multiplicidade, tanto a nível destes mecanismos como dos fatores predisponentes, que surge a desafiante investigação na busca de um tratamento com capacidade curativa (Robinson *et al.*, 2017).

No que diz respeito aos fatores de risco para esta patologia, apesar da idade avançada ser o primordial e o mais correlacionado, é de reter que o envelhecimento não implica o surgimento da DA e que esta pode surgir noutra fase da vida mais precoce (Crous-Bou *et al.*, 2017; Kivipelto *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2019).

Para além da idade, outro fator de risco não modificável é o fator genético, onde se destaca o alelo da apolipoproteína E (ApoE) e a agregação familiar, ou seja, um aumento do risco de demência e DA quando existem parentes de 1º grau que já tiveram a doença (Crous-Bou *et al.*, 2017; Kivipelto *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2019).

Existem outros fatores que potenciam o desenvolvimento da doença, estes podem dividir-se em fatores associados ao risco cardiovascular como a diabetes tipo II, a hipertensão, a obesidade e a dislipidemia, e fatores associados ao estilo de vida como o stress, a depressão, a dieta, a inatividade física e o tabagismo (Crous-Bou *et al.*, 2017; Kivipelto *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2019).

1.2. Evolução da Doença: de Défice Cognitivo Ligeiro a Demência

Prevê-se que no ano de 2100 a população mundial ronde aproximadamente 3.6 bilhões. Este aumento significativo tem um impacto direto no aumento da população idosa, principalmente nos países desenvolvidos, e deve-se ao progresso dos últimos anos no que diz respeito à prestação de cuidados de saúde (Juan e Adlard, 2019).

É de notar que com o envelhecimento surgem alterações biológicas que originam um declínio a nível funcional e neurológico. Este comprometimento físico e cognitivo conduz a uma maior incidência de determinadas patologias, como a diabetes, doenças cardiovasculares, cancro, entre outras, e é um fator de risco para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como a demência e posteriormente a DA (Eshkoor *et al.*, 2015; Kritsilis *et al.*, 2018).

O declínio cognitivo ligeiro (MCI) é caracterizado por uma deterioração a nível da memória, da capacidade de atenção e a nível cognitivo, para além daquilo que seria esperado para determinada idade, porém sem que afete as atividades diárias e portanto sem critérios suficientes para que seja diagnóstico de demência (Bondi *et al.*, 2017). O declínio cognitivo ligeiro posiciona-se assim, como um meio termo entre as alterações cognitivas normalmente associadas a idade avançada e um diagnóstico de demência. (Tangalos e Petersen, 2018).

Embora exista um elevado risco de progressão de défice cognitivo ligeiro para demência, é possível reverter este processo. Para isso, é de extrema importância o diagnóstico de défice cognitivo ligeiro e o seu tratamento para que seja viável uma intervenção prévia, com o objetivo de repor a cognição e de prevenir a evolução para demência (Eshkoor *et al.*, 2015).

Esta evolução ocorre com maior incidência quando já existe um histórico de comorbilidades, que representam um dos fatores de risco. O diagnóstico deste défice é de difícil realização devido à falta de testes específicos e principalmente devido à semelhança entre défice cognitivo ligeiro e demência no que concerne às alterações que ocorrem a nível dos biomarcadores e à sintomatologia que ambas apresentam (Eshkoor *et al.*, 2015).

Na demência, para além do declínio cognitivo que já é característica do défice cognitivo ligeiro, há um comprometimento na realização das atividades diárias pelo indivíduo. Existem vários tipos de demência, entre eles a DA, que representa a forma mais comum, a demência com corpos de Lewy, a demência vascular e a frontotemporal (Livingston *et al.*, 2017).

1.3. Fisiopatologia

A nível macroscópico, a DA caracteriza-se pela atrofia do córtex cerebral, acompanhada pelo aumento do sistema ventricular, pela perda de pigmentação da neuromelanina e pela perda de volume cerebral que afeta especialmente a substância branca (DeTure e Dickson, 2019).

Microscopicamente destacam-se dois mecanismos fisiopatológicos, as placas amiloides e os emaranhados neurofibrilares, que resultam na perda neuronal e sináptica responsável pela sintomatologia típica desta patologia. Para além destes mecanismos, podem se verificar, em situações mais raras, corpos de Hirano, que se tratam de inclusões intracelulares eosinofílicas, degeneração granulovacuolar e angiopatia amiloide cerebral (DeTure e Dickson, 2019).

1.3.1. Amiloide β

As placas amiloides são resultado da acumulação extracelular da proteína β -amiloide ($A\beta$), mais especificamente dos péptidos $A\beta_{40}$ e $A\beta_{42}$, como consequência de uma errada clivagem da PPA, pela ação das endopeptidases da membrana glicoproteica, β -secretase e γ -secretase (DeTure e Dickson, 2019).

O principal constituinte destas placas, $A\beta$, tem origem numa clivagem da PPA. Esta glicoproteína, cujo gene está localizado no cromossoma 21, tem um papel importante no que concerne à homeostase neuronal e está envolvida em vários processos como o transporte intracelular, a sinalização, funções sinápticas, entre outros (Chen *et al.*, 2017).

A clivagem da PPA envolve três proteases, α , β e γ , e ocorre por duas vias: a via amiloidogénica e a via não-amiloidogénica (Chen *et al.*, 2017).

A via não-amiloidogénica consiste na clivagem da PPA pelas α -secretases originando o fragmento terminal ligado à membrana, CTF α (ou C83), e o fragmento terminal sPPA α (Proteína precursora amiloide solúvel associada a α -secretase) cujas funções fisiológicas estão ainda por definir, estes fragmentos são normalmente fagocitados pelas células microgliais. O CTF α é posteriormente clivado pelas γ -secretases dando origem ao domínio extracelular P3 e ao domínio intracelular PPA (AICD) (Chen *et al.*, 2017).

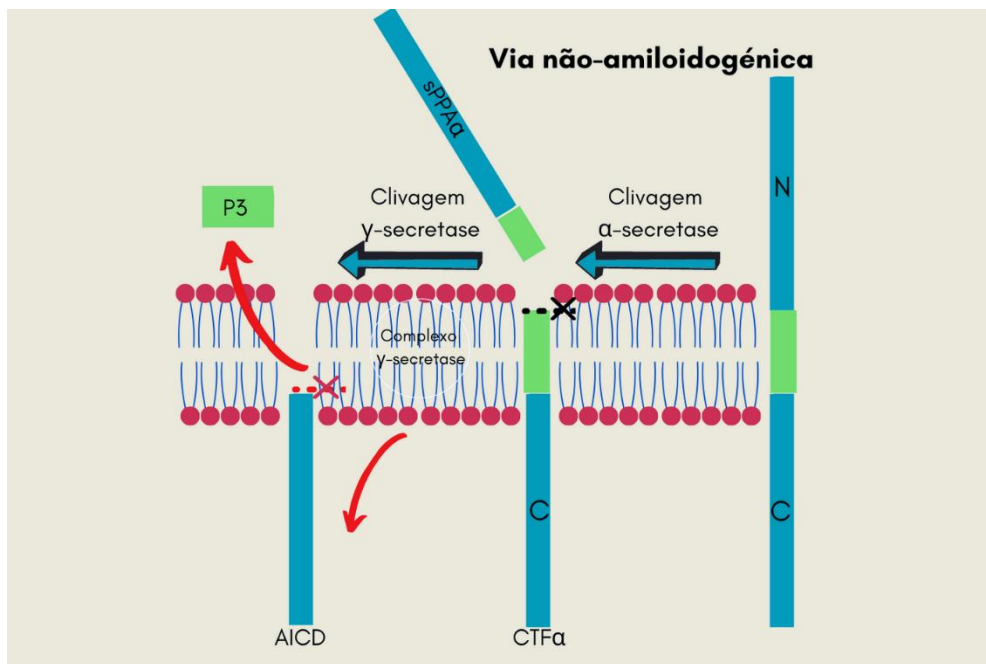


Figura 1. Proteólise da PPA: Via não-amiloidogénica.

Na via amiloidogénica a clivagem da PPA é realizada pelas β -secretases que origina o fragmento terminal sPPA β (proteína precursora amiloide solúvel associada a β -secretase) e o fragmento terminal ligado à membrana- CTF β . Este é posteriormente clivado pelas γ -secretases o que resulta na formação do AICD e no domínio extracelular de A β (Chen *et al.*, 2017)

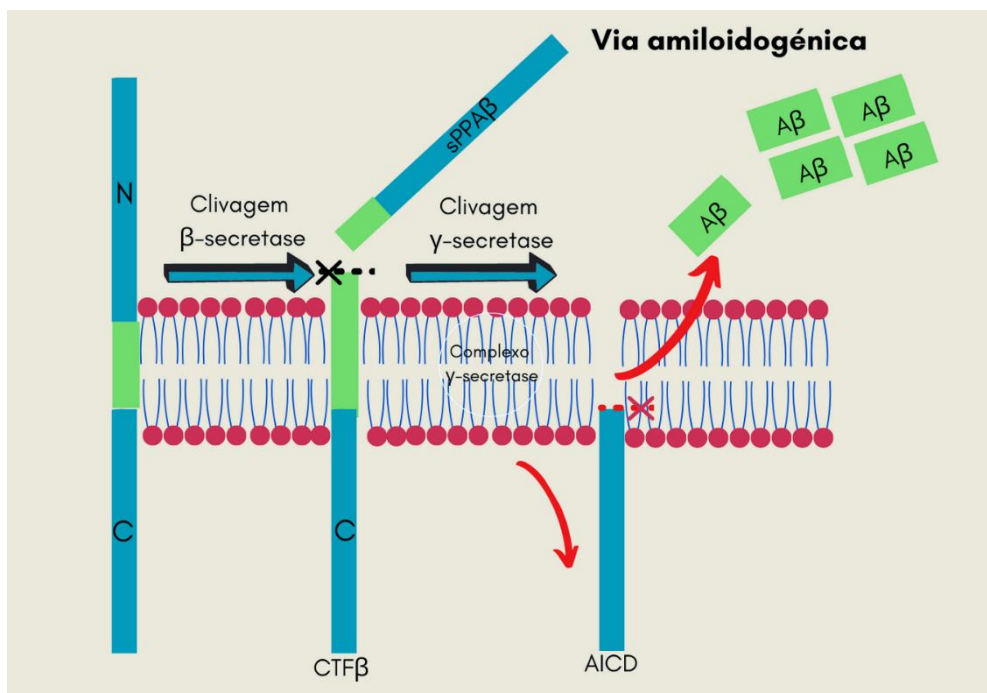


Figura 4. Proteólise da PPA: Via amiloidogénica.

As isoformas mais comuns são o Aβ40 (40 aminoácidos) e o Aβ42 (42 aminoácidos). O Aβ42 revela uma maior propensão para a formação de placas amiloides com uma consequente maior toxicidade neuronal (Ricciarelli e Fedele, 2017).

As presenilinas 1 e 2 (PSEN1 e PSEN2) são constituintes da γ-secretase. Mutações nestes genes, assim como na PPA e na ApoE, originam um aumento da isoforma Aβ42, o que resulta numa maior concentração desta em relação à Aβ40, favorecendo a via amiloidogénica (Chen *et al.*, 2017; Kametani e Hasegawa, 2018).

Quando o Aβ é produzido em elevada quantidade, sem que haja degradação, propicia a sua agregação gradual no espaço extracelular. Esta agregação pode ocorrer em formas estruturais distintas como os oligómeros, as protofibrilas e as fibrilas (Takahashi *et al.*, 2017).

Os oligómeros podem ser captados por astrócitos através do recetor da lipoproteína de baixa densidade (LRP1), podem ser degradados por mecanismos relacionados com a ApoE e podem agregar-se formando fibrilas que posteriormente originam as placas amiloides. Estas placas podem ser degradadas por fagocitose (macrófagos ou microglia)

ou através da libertação de endopeptidases pelos astrócitos como a neprilisina, a enzima de degradação da insulina (IDE) e as metaloproteinases de matriz (MMP) (Masters *et al.*, 2015).

Na DA há um predomínio da isoforma A β 42 e uma incapacidade na degradação das formas anómalas de A β , o que resulta na sua agregação e deposição, induzindo posteriormente a neurotoxicidade e a patologia associada à proteína tau levando por último à morte neuronal (Kametani e Hasegawa, 2018).

1.3.2. Proteína Tau

A proteína tau, cujo gene está localizado no cromossoma 17, é uma MAPT, tendo um papel fundamental, através da sua ligação à tubulina, na estabilização dos microtúbulos, principalmente no axónio onde contribui para o transporte de nutrientes e neurotransmissores. É desta forma responsável pela manutenção da complexa arquitetura das células neuronais (Gao *et al.*, 2018; Kametani e Hasegawa, 2018).

A nível estrutural a proteína tau é composta por quatro domínios: o terminal C, o terminal N, o domínio rico em prolina e o domínio de ligação ao microtúbulo. No desenvolvimento da DA, ocorrem várias modificações pós-traducionais ao nível da proteína tau, sendo a mais vinculada a fosforilação. A fosforilação ocorre ao nível de resíduos de serina e treonina, alterando a proteína especialmente no domínio responsável pela ligação ao microtúbulo (Simic *et al.*, 2016).

A fosforilação desta proteína é regulada por quinases e fosfatases e, portanto, estas enzimas são fulcrais no que concerne à regulação da normal função neuronal e à organização dos microtúbulos. No que diz respeito ao processo de fosforilação, estão envolvidas várias quinases, sendo as que mais se destacam a glicogénio sintase-cinase 3 β (GSK-3 β) e a quinase dependente de ciclina 5 (CDK5) (Chong *et al.*, 2018; Gao *et al.*, 2018).

A hiperfosforilação ocorre quando há um desequilíbrio entre quinases e fosfatases. Esta alteração origina a dissociação da tau dos microtúbulos com consequente acumulação e agregação em oligómeros (Chong *et al.*, 2018; Gao *et al.*, 2018).

As formas oligoméricas de dimensões mais reduzidas são solúveis, podendo atingir a área somatodendrítica e causar toxicidade intracelular. Para além desta toxicidade, podem ser libertadas para o espaço extracelular e captadas por neurónios sãos, promovendo a propagação da doença. Este dano neuronal pode levar também à ativação das células da microglia que induz a neuroinflamação (Vogels *et al.*, 2019).

A microglia apesar de conseguir fagocitar, através da via do complemento, sinapses de neurónios com tau hiperfosforilada (forma patológica) pode, por outro lado, propagar esta mesma forma patológica, através dos exossomas, para neurónios saudáveis. Tem ainda a capacidade de induzir um fenótipo neurotóxico A1 dos astrócitos que causa neurodegeneração, e pode também alterar as funções destes a nível da manutenção da homeostase neuronal (Vogels *et al.*, 2019).

Na DA, a tau hiperfosforilada ao perder afinidade com os microtúbulos, vai progressivamente sofrendo agregação e como consequência origina os emaranhados neurofibrilares. Inicialmente os emaranhados neurofibrilares encontram-se ao nível do córtex entorrinal e hipocampo e com o desenvolver da DA propagam-se para o córtex límbico e para as áreas corticais de associação. Estes emaranhados perturbam o transporte axonal, com consequente perda de sinapses e levam a anomalias tanto a nível do citoesqueleto como mitocondrial, que culmina na perda de memória (Gao *et al.*, 2018).

Por outro lado, vários estudos demonstram uma correlação entre estes dois principais processos fisiopatológicos: placas de amiloide β e emaranhados neurofibrilares. O $A\beta$ formado pode ligar-se à proteína tau e induzir a sua oligomerização. Estes oligómeros de proteína tau propagam-se posteriormente e agregam-se já independentes da ação do $A\beta$. Para além deste mecanismo, o $A\beta$ consegue também ativar as quinases que potenciam a fosforilação da tau. Esta, na sua forma hiperfosforilada, origina os oligómeros que por sua vez resultam nos agregados neurofibrilares (Tatarnikova *et al.*, 2015).

1.3.3. Fatores Genéticos

Do ponto de vista genético, a DA pode ser caracterizada em duas formas distintas: Forma familiar ou forma esporádica multifatorial. A forma familiar é rara e corresponde a menos de 1% dos doentes e geralmente deve-se a uma herança autossómica dominante. A forma

esporádica multifatorial é resultado de uma conjugação de fatores ambientais, exposição e suscetibilidade genética (Cuyvers e Sleegers, 2016).

A DA familiar surge, na maioria dos casos, precocemente. No entanto, nem sempre os doentes de Alzheimer com doença precoce apresentam essa herança autossômica dominante, assim como, em doentes de Alzheimer de início tardio também são identificadas mutações autossômicas dominantes. Os principais genes que causam estas mutações que culminam na DA são o PPA, PSEN1 e PSEN2 (Cuyvers e Sleegers, 2016).

A maioria das mutações da PPA ocorrem nos locais de fragmentação do A β , afetando o processamento da PPA pelas secretases, o que resulta num aumento da produção de A β , especificamente a isoforma A β 42, que possui características amiloidogênicas. Esta produção anormal de A β é um fator de risco de DA associado à síndrome de Down, uma vez que representa uma trissomia do cromossoma 21, que representa a localização do gene PPA (Masters *et al.*, 2015; Pimenova *et al.*, 2018).

As mutações que ocorrem nos genes PSEN1 e PSEN2, constituintes da γ -secretase, estão associadas ao aumento da proporção A β 42/A β 40. A causa genética mais comum para a DA familiar são as mutações no gene PSEN1 que conduzem a um início de doença precoce, que pode surgir entre os 35 e 55 anos. Nas mutações em PSEN2 a sintomatologia surge mais tarde, entre os 40 e 70 anos (Masters *et al.*, 2015; Carmona *et al.*, 2018).

A forma esporádica possui também uma vinculada componente genética – o polimorfismo no alelo ϵ 4 do gene ApoE – que representa o fator de risco genético mais vincado para desenvolver DA. A proteína ApoE, cujo gene está localizado no cromossoma 19, é produzida principalmente por astrócitos e pela microglia. É a principal proteína responsável pelo transporte de colesterol a nível cerebral, participa na endocitose mediada por recetores de lipoproteínas e tem um papel importante na neuroinflamação e na plasticidade sináptica. Tem ainda a capacidade de remover A β através da formação de um complexo A β -ApoE, que é captado pelo LRP1 em várias células cerebrais (Masters *et al.*, 2015; Carmona *et al.*, 2018).

O gene ApoE tem 3 alelos: ApoE ϵ 2, ApoE ϵ 3 e ApoE ϵ 4. A isoforma ApoE ϵ 4 não é capaz de transportar eficientemente o colesterol para as células neuronais em comparação

com as restantes isoformas, o que prejudica a neuroplasticidade. Para além disso, é mais rapidamente catabolizada graças a alterações estruturais, o que diminui a quantidade de ApoE disponível para formar o complexo. Tem também a capacidade de redirecionar o A β -ApoE para os recetores de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), que atrasa o processo de captação. Estas características resultam na acumulação e agregação de A β (Carmona *et al.*, 2018).

1.4 Manifestações Clínicas

A DA caracteriza-se como um distúrbio progressivo e insidioso, com gradual perda de memória, disfunção visuoespacial e executiva, que comprometem a independência funcional. Esta perda de memória afeta principalmente as memórias recentes como aquelas associadas a eventos, horários, lugares e emoções específicas (Erkinen *et al.*, 2018).

Os sintomas neuropsiquiátricos são um marco na DA, quer devido ao sofrimento que causam aos doentes como também ao desafio que representam para os cuidadores. Dentro destes destacam-se apatia, depressão, agressividade, ansiedade, irritabilidade, alucinações, delírios e distúrbios de sono (Lanctot *et al.*, 2017).

1.5 Diagnóstico

Apesar da constante investigação nesta área, até aos dias de hoje, permanece como desafio conseguir diferenciar a DA das restantes demências. No entanto, com a descoberta de biomarcadores do líquido cefalorraquidiano e da tomografia por emissão de positrões (PET) do amiloide β , o National Institute on Ageing (NIA) e a Alzheimer's Association propuseram um conjunto de critérios de diagnóstico. De acordo com estes critérios a DA pode ser repartida em três períodos distintos: pré-clínico, MCI e demência por DA (Scheltens *et al.*, 2016; Hane *et al.*, 2017).

Na primeira etapa do período pré-clínico inicia-se a amiloidose cerebral assintomática, e é graças aos conhecimentos atuais sobre a hipótese amiloide que se pode inferir que esta fase pré-clínica começa anos ou mesmo décadas antes de surgir a sintomatologia da DA. Porém, recorrendo à tecnologia atual, ainda não é possível detetar estas alterações que

ocorrem na primeira etapa. Numa segunda etapa, já é possível detetar um aumento da proteína tau a nível do líquido cefalorraquidiano (LCR). Na terceira fase, começam a ser detetados leves sintomas que são acompanhados pelo contínuo aumento de biomarcadores (Scheltens *et al.*, 2016).

No período de MCI, como já foi referido anteriormente, há uma redução na função cognitiva, mas sem que seja suficiente para ter impacto na realização das atividades do dia-a-dia, mantendo a independência na concretização de tarefas. É de notar que a determinação de MCI é realizada através de testes cognitivos e funcionais pelo clínico, não havendo um método de laboratório para diagnóstico (Scheltens *et al.*, 2016).

A PET e a análise de LCR são métodos possíveis para diagnóstico, no entanto é importante descartar outras patologias ou transtornos que apresentam sintomatologia semelhante, entre elas a deficiência de vitamina B12, folato, cálcio, nefropatias ou disfunções hepáticas. Se numa análise a LCR ou PET existirem biomarcadores positivos de A β ou de comprometimento neuronal, então a probabilidade do MCI se dever a DA é elevada (Scheltens *et al.*, 2016).

No período de demência por DA, para além do comprometimento cognitivo, existe uma incapacidade na realização das atividades diárias. O diagnóstico de demência é normalmente feito através de testes da capacidade cognitiva como o Montreal Cognitive Assessment (MoCA) ou Mini-Mental Status Examination (MMSE). Os biomarcadores da DA englobam níveis diminuídos de A β no LCR e a observação, em imagem PET, de depósitos de A β a nível cerebral. Porém o momento em que é possível distinguir com exatidão a DA de outras demências acontece apenas pós-morte (Scheltens *et al.*, 2016).

2. Tratamento na Doença de Alzheimer

2.1 Medidas Psicoterapêuticas

Os sintomas psicológicos são a principal causa da institucionalização de um doente com DA. Podem ocorrer em qualquer etapa da doença e são normalmente alucinações, delírios, ansiedade, apatia e irritabilidade (Loi *et al.*, 2018).

As estratégias não farmacológicas representam a 1ª linha, onde o cuidador tem um papel de extrema importância, e incluem aromaterapia, fototerapia, musicoterapia, terapia com animais e atividades sociais (Loi *et al.*, 2018).

As estratégias farmacológicas, graças às possíveis interações medicamentosas e aos potenciais efeitos adversos como síndrome metabólico, sedação, problemas de equilíbrio, aumento do risco de enfarte, aumento do risco de morte súbita, agitação, aumento de peso, entre outros, são consideradas de 2ª linha. Nos casos de apatia e psicose inclui-se normalmente os neurolépticos como a risperidona, olanzapina e aripiprazol (Loi *et al.*, 2018; Wolinsky *et al.*, 2018).

Nos casos de agressividade ou agitação extrema estão indicados o haloperidol ou diazepam, é de notar que como o haloperidol é um antipsicótico clássico é importante monitorizar os efeitos extrapiramidais. No que concerne a hiperatividade inclui-se a quetiapina, a risperidona e olanzapina. No tratamento da depressão devem preferir-se os inibidores seletivos da recaptção da serotonina como por exemplo a sertralina ou o escitalopram (Loi *et al.*, 2018; Wolinsky *et al.*, 2018).

2.2 Tratamento Farmacológico

Como referido anteriormente, o tratamento farmacológico da DA centraliza-se na manutenção da sintomatologia com o objetivo de atrasar a progressão da doença e melhorar a qualidade de vida do doente, sem surtir efeito nos principais mecanismos fisiopatológicos e, conseqüentemente, sem exercer ação curativa. Assim sendo, os dois principais grupos de fármacos são os (1) inibidores da colinesterase, frequentemente indicado nos estágios iniciais da DA, e o (2) antagonista do recetor NMDA, indicado em doentes com DA moderada a grave (Deardorff e Grossberg, 2016; Mendiola-Precoma *et al.*, 2016).

2.2.1 Inibidores da Colinesterase

Os inibidores da colinesterase representam os únicos fármacos com melhorias significativas na função cognitiva de doentes com DA, controlando a sintomatologia e exercendo uma melhoria na função colinérgica nas sinapses neuronais. Atuam nas

enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE), enzimas responsáveis pela degradação do neurotransmissor acetilcolina (ACh) após a transmissão do impulso nervoso, que ocorre nas sinapses. Os níveis de ACh no cérebro de doentes com Da encontram-se diminuídos. Assim, os inibidores da colinesterase, ao bloquear estas enzimas, aumentam a disponibilidade de ACh na fenda sináptica. Este neurotransmissor tem um papel importantíssimo no que concerne à memória e capacidade de aprendizagem. Consequentemente, uma elevação da ACh, graças à ação destes fármacos, diminui a sintomatologia da DA (Dos Santos Picanco *et al.*, 2016; Mendiola-Precoma *et al.*, 2016).

Atualmente existem 4 fármacos pertencentes a esta classe, aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) para tratamento da DA: (1) Tacrina (2) Donepezilo, (3) Rivastigmina e (4) Galantamina (Sahoo *et al.*, 2018).

2.2.1.1 Tacrina

A tacrina (tetra-hidroaminoacridina) é um inibidor não-seletivo reversível da AChE, que atua pela inibição da AChE e aumento da ACh, impedindo a sua hidrólise após libertação nas sinapses. Atua também como inibidor da histamina N-metiltransferase. No entanto, não é normalmente prescrita devido à sua elevada hepatotoxicidade (Sahoo *et al.*, 2018)

2.2.1.2 Donepezilo

O donepezilo é um inibidor não competitivo reversível altamente seletivo da AChE, inibindo a hidrólise da ACh, que resulta num aumento da concentração deste neurotransmissor nas sinapses colinérgicas. Este fármaco é bem tolerado, não apresenta reações adversas graves, podendo ter efeitos colinérgicos menores como vômitos, diarreia, náuseas e obstipação. Uma vez que os inibidores da colinesterase podem ter efeitos vagotónicos, a sua utilização em doentes cardíacos, com doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC), asma ou arritmias cardíacas graves deve ser prudente uma vez que pode causar bradicardia ou bloqueio cardíaco. Este fármaco utiliza a via metabólica do citocromo P450 e, portanto, é importante uma reforçada atenção com possíveis interações medicamentosas (Dos Santos Picanco *et al.*, 2016; Sahoo *et al.*, 2018).

2.2.1.3 Rivastigmina

A rivastigmina é um derivado do carbamato e inibidor pseudo-irreversível seletivo da AChE e BChE, que inibe a forma G1 (monomérica) da AChE no córtex e no hipocampo, melhorando significativamente a cognição e a memória. É semelhante, no que diz respeito às interações medicamentosas e interações com outras patologias, ao donepezilo, no entanto, não envolve a metabolização pelo citocromo P450 (Dos Santos Picanco *et al.*, 2016; Sahoo *et al.*, 2018).

2.2.1.4 Galantamina

A galantamina é um alcaloide terciário isolado de *Galanthus nivalis* L. (Amaryllidaceae) que atua como inibidor seletivo e reversível da AChE, com ação modeladora dos recetores nicotínicos e com capacidade de melhorar a função colinérgica e a aptidão de memória. É metabolizada por via das isoenzimas do citocromo P450, a nível hepático, logo, requer atenção nas possíveis associações medicamentosas. Como é um inibidor da colinesterase é possível interação com fármacos com efeitos colinomiméticos (Dos Santos Picanco *et al.*, 2016; Sahoo *et al.*, 2018).

2.2.2 Antagonista do Recetor NMDA

O glutamato é um dos aminoácidos mais abundantes no sistema nervoso central (SNC), atua como neurotransmissor excitatório cerebral com extrema importância para a atividade sináptica e representa um papel importante na biossíntese de proteínas (Sahoo *et al.*, 2018).

Os recetores químicos do glutamato são os recetores ionotrópicos (AMPA (Alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico) e NMDA) e os recetores metabotrópicos. Os recetores NMDA atuam na ativação do íão cálcio (Ca^{2+}), desempenhando um papel importante na capacidade de aprendizagem e memória. Qualquer mutação que ocorra nestes recetores resulta numa maior concentração de glutamato no sangue em relação ao cérebro e, em resposta a esta alteração, o organismo começa a bombear glutamato para os neurónios, a nível cerebral (Sahoo *et al.*, 2018).

Esta hiperativação dos recetores NMDA, origina um aumento do influxo de Ca^{2+} e a sua acumulação, que causa stress mitocondrial com conseqüente elevada produção de radicais livres e um aumento excessivo da fosforilação oxidativa que conduzem à apoptose neuronal. Esta estimulação anormal do recetor pode ser impedida por antagonistas do recetor NMDA como a memantina (Mendiola-Precoma *et al.*, 2016; Sahoo *et al.*, 2018).

2.2.2.1 Memantina

A memantina é um antagonista não competitivo de recetores NMDA que modula os níveis elevados de glutamato que podem causar disfunção neuronal. Este fármaco atua também na diminuição da atividade da GSK-3 β , esta enzima tem sido associada às características fisiopatológicas da DA, atenuando dessa forma a fosforilação da proteína tau e a deposição de amiloide- β (Mendiola-Precoma *et al.*, 2016; Sahoo *et al.*, 2018).

2.2.3 Terapia de Combinação

Nos últimos anos, a terapia de combinação tem sido uma opção preferencial em relação à monoterapia no tratamento de patologias crónicas como a hipertensão, diabetes e DPOC, uma vez que promovem melhor adesão à terapêutica, graças a uma simplificação na dosagem, e claro devido aos benefícios clínicos que apresentam (Calhoun *et al.*, 2018).

A terapia de combinação, pela associação de um inibidor da colinesterase e memantina, é o padrão para o tratamento sintomático de doentes com DA moderada a grave, apresentando benefícios na cognição e no estado clínico global em relação à terapêutica isolada com inibidor da colinesterase, porém surgem ainda algumas questões em relação à relevância clínica destes resultados (Deardorff e Grossberg, 2016; Calhoun *et al.*, 2018).

Em dezembro de 2014, foi aprovado pela FDA o Namzaric[®], Allergan (memantina ER e donepezilo), uma associação de fármacos em dose fixa (ADF), com posologia de uma cápsula diária, para o tratamento de DA moderada a grave, em doentes que já faziam um tratamento combinado de donepezilo e memantina. Em 2016, a FDA aprovou o seu uso, também, em doentes em monoterapia com donepezilo (Deardorff e Grossberg, 2016).

Este fármaco possui vários benefícios devido à sua capacidade de atuar em múltiplos alvos. Esses benefícios incluem o aumento da adesão à terapêutica e uma maior

praticabilidade para os cuidadores de doentes com DA moderada a grave, por exemplo naqueles com dificuldade na deglutição, uma vez que apenas requer uma toma diária. Apresenta também algumas desvantagens como incongruências nos resultados relativos a eficácia clínica e o facto do seu custo ser superior ao da monoterapia. No entanto, demonstra melhorar a qualidade de vida do doente, atrasando a necessidade de institucionalização, tendo assim uma boa relação custo-benefício (Calhoun *et al.*, 2018).

2.3 Novos Tratamentos Farmacológicos

Atualmente, não existe nenhum tratamento capaz de alterar a progressão da DA. Ao longo dos anos, várias investigações foram realizadas até à descoberta dos inibidores da colinesterase e da memantina que, como referido anteriormente, têm a capacidade de melhorar a sintomatologia, porém sem surtir efeito na progressão da DA. E por isso, tornou-se fulcral desenvolver novas estratégias e identificar alvos inovadores que conseguissem alterar o desenvolvimento da DA ou até mesmo promover uma ação curativa (Loera-Valencia *et al.*, 2019).

Com a descoberta de novos mecanismos fisiopatológicos, acompanhada da evolução científica e tecnológica que emergiu nos últimos anos, surgiram oportunidades para explorar novas vertentes que poderiam explicar a origem e a progressão da DA, permitindo assim um diagnóstico mais precoce e uma melhor caracterização da doença (Loera-Valencia *et al.*, 2019).

A maioria das terapêuticas modificadoras da doença testadas nos últimos 20 anos têm como alvo os principais mecanismos patológicos: a acumulação de A β e a proteína tau (van Dyck, 2018; Panza *et al.*, 2019).

2.3.1 Terapêutica modificadora A β

As terapêuticas modificadoras com alvo na acumulação de A β incluem os inibidores e moduladores das β -secretase e γ -secretase e a imunoterapia. A imunoterapia é a terapêutica anti-A β mais desenvolvida, principalmente a imunização passiva, através de anticorpos monoclonais. (van Dyck, 2018; Panza *et al.*, 2019).

2.3.1.1 Imunoterapia Ativa

A vacinação (imunoterapia ativa), que implica a administração de um antígeno A β , tem como principal vantagem a produção de anticorpos a longo prazo, no entanto existem desvantagens como as reações adversas e o facto da resposta imune ser inconsistente ou até mesmo inexistente (Panza *et al.*, 2019).

a. AN-1792

Em 2002 surge a vacina AN-1792 (A β 42 pré-agregado com adjuvante imunológico QS-21), que reduziu significativamente os depósitos de A β no cérebro de pacientes com DA, no entanto o ensaio clínico foi interrompido uma vez que originou uma resposta imunológica mediada pelas células T, onde 6% dos doentes desenvolveram meningoencefalite. Posteriormente novos antígenos e adjuvantes mais seguros foram desenvolvidos, mas sem resultados clínicos benéficos (van Dyck, 2018; Panza *et al.*, 2019).

b. Vanutide

O Vanutide é um conjugado de vários fragmentos curtos de A β (antígeno) com toxóide diftérico, que surgiu para contornar os desafios da AN-1792. Foi testado em ensaio de fase II, no entanto, apesar de bem tolerado, não demonstrou alterações a nível cognitivo, nos volumes cerebrais ou nos biomarcadores no LCR em relação ao grupo placebo (Panza *et al.*, 2019).

Atualmente, existem 2 vacinas anti-A β em estudo: (1) CAD106 (fase III) e (2) ABVac40 (fase II). Ambas afirmam contornar o risco de meningoencefalite, eliminando os fragmentos de A β responsáveis pela indução da resposta imune Th1 (Long e Holtzman, 2019).

2.3.1.2 Imunoterapia Passiva

A imunoterapia passiva consiste na administração de anticorpos anti-A β humanizados, monoclonais ou policlonais. Esta terapêutica possui vantagens em relação à imunoterapia ativa que incluem a manutenção de títulos constantes de anticorpos e um maior controlo

dos efeitos adversos. As principais desvantagens são o custo de produção e a necessidade de administrações repetidas. Atualmente, 6 anticorpos monoclonais distintos, que têm como alvo o A β , estão em ensaios clínicos de fase III: Bapineuzumab, Solanezumab, Crenezumab, Gantenerumab, Donanemab e BAN2401 (van Dyck, 2018; Panza *et al.*, 2019).

a. Bapineuzumab

O bapineuzumab é um anticorpo monoclonal anti-A β humanizado da imunoglobulina (Ig) G1 que tem como alvo o A β N-terminal e que se liga ao A β solúvel e fibrilar desencadeando, através das células da microglia, a sua fagocitose. Este anticorpo foi testado em ensaios clínicos de fase III, em doentes com DA leve a moderada, sem surtir efeito sobre a cognição ou nas atividades da vida diária (van Dyck, 2018; Long e Holtzman, 2019).

b. Solanezumab

O solanezumab é um anticorpo monoclonal anti-A β humanizado IgG1, cujo epítopo se encontra no domínio médio A β , ligando-se apenas ao A β solúvel, aumentando a depuração dos monómeros. Em dois ensaios clínicos de fase 3, realizados em doentes com DA leve a moderada, não foram demonstrados benefícios na cognição ou nas atividades da vida diária, nem houve redução na deposição de A β a nível cerebral. Num terceiro estudo realizado, de fase III, obtiveram-se os mesmos resultados (van Dyck, 2018; Long e Holtzman, 2019).

c. Crenezumab

O crenezumab é um anticorpo monoclonal anti-A β humanizado IgG4, com afinidade para o A β oligomérico e fibrilar. Em janeiro de 2019, dois ensaios clínicos de fase III foram terminados após ausência de benefício clínico (Long e Holtzman, 2019).

d. Gantenerumab

O gantenerumab é um anticorpo monoclonal totalmente humano IgG1, que se liga a um epítopo expresso em fibrilas de A β , desencadeando a fagocitose pelas células da microglia. Em 2014, entrou em ensaio clínico de fase III para DA leve que foi concluído devido a ausência de resultados. Um estudo de fase II/III de 2 anos, em pacientes com DA que tinham biomarcadores de evidência de deposição de A β no cérebro, foi interrompido por futilidade, embora tenha mostrado uma redução de A β cerebral no PET, bem como níveis reduzidos de tau total e fosforilada no LCR. O estudo foi convertido num estudo de extensão de rótulo aberto para avaliar os potenciais efeitos em doses mais altas. Dois estudos de fase III de 2 anos, com doses altas, foram recentemente iniciados em doentes com DA e com biomarcadores de deposição precoce de A β no cérebro (Panza *et al.*, 2019).

e. Donanemab

O donanemab é um anticorpo monoclonal que tem como alvo exclusivo o A β (p3-42) com a finalidade de atuar diretamente na depuração do A β em placa. Atualmente encontra-se em ensaio clínico de fase II (Long e Holtzman, 2019).

f. BAN2401

O BAN2401 é um anticorpo monoclonal que se liga seletivamente às protofibrilas de A β solúveis. Estudos realizados de fase II, mostraram resultados a nível da depuração dos depósitos amiloides cerebrais e numa possível redução no declínio cognitivo. Atualmente, encontra-se em ensaio clínico de fase III, em DA prodrômica a leve (Long e Holtzman, 2019; Panza *et al.*, 2019).

2.3.1.3. Inibidores da β -secretase

A clivagem da PPA, com referido anteriormente, é mediada por diferentes enzimas, entre elas a β -secretase 1 (BACE1), sendo uma das principais etapas para a produção de Amiloide β . A inibição desta enzima interfere assim com o processo fisiopatológico da cascata amiloide. Os inibidores da β -secretase têm um alvo terapêutico inovador, no

entanto, a praticabilidade desta terapêutica apresenta alguns problemas (Long e Holtzman, 2019).

Em primeiro lugar, a BACE1, tem um papel fisiológico importante na neurogênese, na orientação do axônio, na formação do fuso muscular, nas funções neuronais e na mielinização, logo ao inibir esta enzima as consequências nos processos fisiológicos podem ser tóxicas para o ser humano (Sahoo *et al.*, 2018; Panza *et al.*, 2019).

Por outro lado, o local ativo da enzima é grande, logo são necessárias moléculas de dimensões volumosas para inibir a atividade da enzima, estas moléculas normalmente têm dificuldade em atravessar a barreira hematoencefálica, têm baixa biodisponibilidade oral e estão suscetíveis ao transporte pela glicoproteína P (Sahoo *et al.*, 2018; Panza *et al.*, 2019).

Atualmente, devido à toxicidade que resulta da sua ação, poucos são os inibidores da β -secretase em desenvolvimento clínico, entre eles: Verubecestat, Lanabecestat, Elenbecestat, Atabecestat e CNP520 (Sahoo *et al.*, 2018; Panza *et al.*, 2019).

2.3.1.4. Inibidores da γ -secretase

A γ -secretase é constituída por quatro proteínas de membrana diferentes: (1) presenilina, (2) potenciador da presenilina 2 (Pen-2), (3) nicastrina e (4) anterior faringe defeituoso 1 (Aph1). A presenilina é codificada pelos genes PSEN-1 e PSEN-2, obtendo-se, como produto destes genes, as nove proteínas do domínio transmembranar que constituem a γ -secretase. Esta protease atua após clivagem do PPA pela BACE1, sendo responsável pela fragmentação do CTF β , que resulta na formação do AICD e do domínio extracelular de A β (Maia e Sousa, 2019).

Estas fragmentações realizadas pela γ -secretase, dependentemente do tipo de clivagem (γ , ϵ ou ζ) geram A β de diferentes comprimentos. A primeira clivagem (ϵ) origina o domínio AICD e liberta A β 49 e A β 48. A clivagem ζ e γ fragmenta estas formas mais longas de A β , originando A β 42 e A β 40. Posteriormente, ocorrem clivagens que vão diminuindo o comprimento para A β 40 e A β 38 e sucessivamente para A β 39 e A β 37 (Maia e Sousa, 2019).

As mutações mais frequentes, que diminuem a atividade catalítica da γ -secretase, têm um efeito mais marcado ao nível da quarta clivagem, aumentando dessa forma a razão A β 42:A β 40, que representam as isoformas mais propensas à agregação e consequentemente as mais tóxicas (Maia e Sousa, 2019).

O desenvolvimento de terapêutica com ação inibitória da γ -secretase tem como objetivo reduzir a quantidade de A β que é formado. Atualmente, em ensaio clínico de fase II encontra-se o avagacestat e em ensaio clínico de fase III, que terminou recentemente devido a ineficácia clínica, o semagacestat (Maia e Sousa, 2019).

2.3.1.5. Moduladores da γ -secretase

Moduladores da γ -secretase são compostos capazes de alterar a proporção das isoformas de A β geradas, sem alterar a taxa de processamento da PPA (Maia e Sousa, 2019).

a. Anti-inflamatórios não esteroides (AINE's)

Num estudo epidemiológico, foi observada uma prevalência de DA baixa em indivíduos que faziam AINE's. Posto isto, em 2001, foi verificada a capacidade dos AINE's diminuírem a isoforma A β 42, ao mesmo tempo que aumentavam a isoforma A β 38, sem alterar o processamento da PPA, modulando dessa forma a atividade da γ -secretase. Esta alteração na clivagem pode ser explicada pela dissociação lenta do fragmento CTF β (ou C99), clivado em ϵ , aumentando o processamento enzimático, o que origina segmentos de A β mais curtos (Long e Holtzman, 2019; Maia e Sousa, 2019).

O uso de AINE's, como modeladores a longo prazo, é comprometido graças aos seus efeitos adversos a nível gástrico e nefrotoxicidade, como consequência da atividade inibitória da ciclooxigenase 1 (COX-1). Porém, posteriormente, verificou-se que a atividade inibitória da COX-1 era independente da modulação da γ -secretase (Long e Holtzman, 2019; Maia e Sousa, 2019).

Surgiu assim o Tarenflurbil, um fármaco com atividade modeladora desta protease mas sem a atividade inibitória da COX-1. No entanto, após ensaios clínicos de fase III, não ocorreu redução significativa das isoformas tóxicas e não demonstrou qualquer benefício na cognição ou melhoria nas atividades da vida diária. Atualmente, existem outros

moduladores promissores, porém, ainda em fase de desenvolvimento (Long e Holtzman, 2019; Maia e Sousa, 2019).

2.3.2 Terapêutica modificadora proteína tau

O desenvolvimento de terapêuticas modificadoras da doença com alvo na proteína tau tem sido objeto de desenvolvimento. Como existe uma correlação entre a patologia tau e os comprometimentos cognitivos, espera-se que, numa terapêutica cujo alvo seja esta proteína, exista maior eficácia do que na depuração de A β , uma vez que a sintomatologia é mais evidente (Panza *et al.*, 2019).

Com a investigação, várias foram as estratégias propostas para reduzir a patogenicidade da tau, no entanto, a maioria das terapias, baseadas na inibição das cinases, inibição da agregação da tau, ou na estabilização dos microtúbulos, foram interrompidas devido à toxicidade e à falta de eficácia (Long e Holtzman, 2019; Panza *et al.*, 2019).

2.3.2.1 Tideglusib

Uma das estratégias para diminuir a patogenicidade da tau é inibir a hiperfosforilação anormal recorrendo a inibidores da GSK-3, como o tideglusib. Este fármaco, num estudo pré-clínico em camundongos transgênicos que expressavam a proteína tau e PPA humanos, demonstrou diminuir a fosforilação da tau, menor deposição de A β , menor perda neuronal e conseqüentemente melhorou a cognição. Porém, num ensaio clínico de fase II, realizado em doentes com DA moderada a leve, não demonstrou qualquer benefício na diminuição do declínio cognitivo em comparação com o grupo placebo.

2.3.2.2 Imunoterapia

Outra área que tem sido alvo de investigação é a imunoterapia, incluindo a imunização passiva e ativa (Long e Holtzman, 2019).

a. Imunoterapia ativa

Atualmente, encontram-se em desenvolvimento duas vacinas: (1) AADvac-1 e (2) ACI-35 (Long e Holtzman, 2019).

A AADvac-1 consiste num péptido sintético tau, derivado dos aminoácidos 294-305, conjugados com hemocianina de lapa e com o uso de hidróxido de alumínio como adjuvante. Atualmente encontra-se em ensaios clínicos de fase II (Long e Holtzman, 2019).

A ACI-35 é uma vacina à base de lipossomas, que contem 16 cópias de um fragmento de tau fosforilado sintético. Tem como objetivo induzir uma resposta imune contra a tau fosforilada patológica sem interferir com a não patológica. Concluiu os ensaios clínicos de fase I e aguarda progressão para fase II (Long e Holtzman, 2019).

b. Imunoterapia passiva

No que concerne a imunização passiva, existem, atualmente, vários anticorpos monoclonais em ensaios clínicos, entre eles: HJ8.5, R07105705, BIIB076, JNJ-63733657, LY3303560, MC1-L e UCB1017 (Long e Holtzman, 2019).

O HJ8.5, anticorpo monoclonal anti-tau, demonstrou, em estudos pré-clínicos realizados em camundongos PS19, diminuição da hiperfosforilação da tau, níveis reduzidos de atrofia cerebral e de tau insolúvel, e redução do défice cognitivo. Este anticorpo foi humanizado e, em camundongos PS19, descobriu-se que a tau plasmática se correlaciona inversamente com a tau solúvel a nível cerebral, logo os níveis de tau periféricos refletem as alterações que ocorrem a nível do SNC. Num doente com paralisia supranuclear progressiva (PSP), após injeção intravenosa, demonstrou um aumento da concentração plasmática da tau. Esta versão humanizada, denominada ABBV-8E12, está atualmente em dois ensaios clínicos de fase II, com doentes com DA e PSP precoce (Long e Holtzman, 2019).

2.3.2.3 Oligonucleótidos antisense

Outra estratégia para limitar a patogenicidade da proteína tau é o uso de oligonucleótidos antisense (ASOs) intratecais. Os ASOs são cadeias simples de ácidos nucleicos com a capacidade de se ligar seletivamente a um RNA alvo. Têm a capacidade de alterar a síntese de proteínas, modificando o processamento do RNA, são assim uma estratégia

terapêutica direta no que concerne à modulação da expressão genética (Wurster e Ludolph, 2018; Long e Holtzman, 2019).

Tratamentos clínicos, baseados nestes oligonucleótidos, têm eficácia em patologias como a atrofia motora espinhal e estão em fase de testes na doença de Huntington. Estudos pré-clínicos, com camundongos com super-expressão da tau, demonstram que esta abordagem pode ser utilizada em patologias associadas à proteína tau. Atualmente, encontra-se em ensaio clínico de fase I/II em doentes com DA leve (Wurster e Ludolph, 2018; Long e Holtzman, 2019).

2.3.3. ApoE

Como referido anteriormente, a ApoE é o principal fator de risco genético para o desenvolvimento de DA tardia. Esta proteína possui funções de extrema relevância no que diz respeito ao transporte lipídico e à manutenção da homeostase sináptica. Assim, as terapêuticas modificadoras que vão surgindo com alvo na ApoE, têm como principal objetivo o aumento da quantidade ou o grau de lipidação da ApoE, de forma a modular as vias patológicas associadas à DA (Uddin *et al.*, 2019; Yamazaki *et al.*, 2019).

O APOE $\epsilon 4$, que representa o fator de risco genético mais vincado para desenvolver DA, é estruturalmente pouco lipidado relativamente aos restantes alelos. A lipidação adequada, que é realizada a nível dos astrócitos pela *abca1* (transportador de cassetes de ligação à adenosina trifosfato (ATP)), é essencial para a estabilidade e funcionalidade da ApoE e também para a sua capacidade de formar partículas semelhantes ao HDL, que são fulcrais no transporte de colesterol. Esta pobre lipidação, resulta numa função reduzida da ApoE com uma elevada probabilidade de desenvolver um processo patológico, posteriormente (Suidan e Ramaswamy, 2019).

Um estudo populacional, descobriu que uma variante com perda da função *abca1*, levou a uma diminuição da ApoE a nível plasmático, aumentando o risco de desenvolver DA, doença cerebrovascular e acidente vascular cerebral hemorrágico, demonstrando assim a ligação entre a concentração da ApoE e um bom desempenho do sistema cerebrovascular. Por outro lado, uma expressão exagerada de *abc1* leva ao aumento da lipidação da ApoE

com consequente aumento da depuração de A β . (Suidan e Ramaswamy, 2019; Yamazaki *et al.*, 2019).

Assim, os compostos em investigação, que têm como alvo a ApoE, possuem diferentes estratégias de atuação: (1) correção da estrutura da ApoE, (2) aumentar a lipidação da ApoE, (3) depuração de ApoE não lipídada e (4) redução da expressão da ApoE (Suidan e Ramaswamy, 2019).

2.3.3.1. Correção da estrutura da ApoE

A presença de Arginina na posição 112 do aminoácido, em ApoE ϵ 4, posição esta, que no caso da ApoE ϵ 3, é ocupada pela Cisteína, leva a uma interação entre o domínio de ligação da LRP1 e o domínio de ligação carboxi-terminal, resultando numa interação de domínio (Suidan e Ramaswamy, 2019).

Esta interação de domínio, característica da isoforma ApoE4, que se deve às diferenças de aminoácidos entre esta e as restantes isoformas, origina mudanças conformacionais que alteram a funcionalidade e resultam em instabilidade. Esta alteração origina maior clivagem da ApoE4 com consequente disfunção mitocondrial. O desenvolvimento de pequenas moléculas com a capacidade de converter a ApoE4 numa molécula estruturalmente semelhante a ApoE3 é um dos atuais focos de investigação (Suidan e Ramaswamy, 2019).

2.3.3.2. Aumentar a lipidação da ApoE

Uma das estratégias atuais, com alvo na ApoE, é o aumento do grau de lipidação desta proteína. A administração de agonistas do recetor X hepático e do recetor X retinoide, demonstrou, em modelos de camundongo com patologia amiloide, capacidade de modular a expressão da *abca1*, resultando num aumento desta proteína no cérebro, num aumento dos níveis de lipidação da ApoE no SNC e consequentemente, uma redução na deposição de A β com melhoria na função cognitiva (Suidan e Ramaswamy, 2019; Uddin *et al.*, 2019; Yamazaki *et al.*, 2019).

a. Bexaroteno

Num modelo de camundongos com patologia amiloide, a administração oral de bexaroteno, um agonista do recetor X retinoide, demonstrou diminuir a deposição de A β com consequente melhoria da função cognitiva, independentemente do alelo ApoE que expressavam. No entanto foram relatados efeitos adversos, principalmente a hepatotoxicidade, bem como resultados incongruentes (Yamazaki *et al.*, 2019).

Num estudo realizado em pacientes com DA, o bexaroteno, não reduziu a deposição amiloide e apesar de aumentar os níveis de ApoE no LCR, não repercutiu efeito na metabolização de A β . A potencial aplicação clínica deste composto enfrenta bastantes limitações devido aos efeitos adversos sistémicos, como a hipertrigliceridemia, uma vez que interfere com os recetores X retinoide e X hepático, que ativam vias metabólicas hepáticas (Suidan e Ramaswamy, 2019; Yamazaki *et al.*, 2019).

A investigação que surge, visa identificar um composto capaz de modular, principalmente, a lipidação da ApoE4, que seja independente do recetor X hepático e do recetor X retinoide, contrariando os graves efeitos adversos que surgem da sua atividade (Suidan e Ramaswamy, 2019; Yamazaki *et al.*, 2019).

2.3.3.3. Depuração de ApoE não lipídada

A investigação que surge, com foco na depuração da ApoE não lipídada, tem por base a imunização passiva, através da administração de anticorpos que têm como alvo a ApoE não lipídada e agregada (ApoE4), com o objetivo da depuração das placas amiloides, através da ligação à ApoE nas placas com posterior ativação da resposta celular microglial (Suidan e Ramaswamy, 2019).

2.3.3.4. Redução da expressão da ApoE

Como referido anteriormente, a ApoE constitui o principal fator de risco para o desenvolvimento de Da, portanto, a redução da expressão desta proteína, especialmente da ApoE4 constitui um foco de especial interesse, na investigação atual (Suidan e Ramaswamy, 2019).

Tratamento da Doença de Alzheimer: na atualidade e no futuro

Num estudo realizado, em camundongos com ApoE3 e ApoE4 KI humanos, utilizando a tecnologia de oligonucleótidos antisense com o objetivo de reduzir a ApoE, demonstrou que cerca de 50% da redução de ApoE, iniciada após o nascimento, resultou numa diminuição de 50% da área da placa amiloide (Suidan e Ramaswamy, 2019).

No entanto, a redução de ApoE que ocorre já após formação de A β , não repercutiu efeito nos níveis de A β total e, para além disso, levou ao aumento do tamanho médio das placas amiloides. Este estudo levantou várias questões relativamente à relação entre a ApoE e a deposição de A β e de qual o melhor *timing* para a utilização de uma terapia que tenha como alvo a ApoE (Suidan e Ramaswamy, 2019).

Tratamento da Doença de Alzheimer: na atualidade e no futuro

Tabela 1- Fase atual de desenvolvimento dos novos fármacos modificadores da doença de Alzheimer. (Hung e Fu, 2017; EMA, 2020)

Fármaco	Mecanismo de ação	Ensaio Clínico	Estado
Proteína Amiloide β			
CAD106	Vacina Anti-A β	Fase III	A decorrer
ABVac40	Vacina Anti-A β	Fase II	A decorrer
Bapineuzumab	Anticorpo monoclonal anti-A β	Fase III	Terminado Sem eficácia clínica
Solanezumab	Anticorpo monoclonal anti-A β	Fase III	Terminado Sem eficácia clínica
Crenezumab	Anticorpo monoclonal anti-A β	Fase III	Terminado Sem eficácia clínica
Donanemab	Anticorpo monoclonal anti-A β	Fase II	A decorrer
Gantenerumab	Anticorpo monoclonal anti-A β	Fase III	A decorrer
BAN2401	Anticorpo monoclonal anti-A β	Fase III	A decorrer
β-secretase			
Verubecestat	Inibidor da β -secretase	Fase de desenvolvimento	
Lanabecestat	Inibidor da β -secretase	Fase de desenvolvimento	
Elenbecestat	Inibidor da β -secretase	Fase de desenvolvimento	
Atabecestat	Inibidor da β -secretase	Fase de desenvolvimento	
CNP520	Inibidor da β -secretase	Fase II/III	Terminado prematuramente
γ-secretase			
Avagacestat	modelador da γ -secretase	Fase II	A decorrer
Semagacestat	Inibidor da γ -secretase	Fase III	Terminado Sem eficácia clínica
Proteína Tau			
Tideglusib	Inibidor GSK-3	Fase II	Terminado Sem eficácia clínica
AADvac-1	Vacina anti-tau	Fase II	A decorrer
ACI-35	Vacina anti-tau	Fase I	Terminado Aguarda progressão para fase II
HJ8.5	Anticorpo monoclonal anti-tau	Fase II	A decorrer

III Conclusão

A crescente melhoria nos cuidados de saúde dos últimos anos provocou o aumento da esperança média de vida, principalmente nos países desenvolvidos. No entanto, o número de doenças neurodegenerativas, onde se inclui a DA, tem vindo a aumentar.

A DA é o tipo de demência mais prevalente, representando uma das principais causas de morte a nível mundial e uma das maiores preocupações de saúde pública atualmente. É uma doença de enorme complexidade tanto a nível de fatores predisponentes como de mecanismos fisiopatológicos responsáveis pelo seu desenvolvimento, de onde se destacam a hiperfosforilação da proteína tau e a agregação do amiloide- β .

A terapêutica atual inclui os inibidores da colinesterase e o antagonista do recetor NMDA. Estes fármacos focam-se principalmente na sintomatologia, com o objetivo de atrasar a progressão da doença e melhorar a qualidade de vida do doente. No entanto não têm impacto nos principais mecanismos fisiopatológicos e, conseqüentemente, não exercem ação curativa.

Atualmente não existem terapêuticas modificadores da doença, isto é, com ação preventiva, curativa ou que impeçam a evolução da DA e, portanto, torna-se fulcral desenvolver novas estratégias e identificar alvos inovadores.

As terapêuticas modificadoras da doença em estudo têm como principais alvos a proteína tau e o amiloide β . Vários fármacos foram testados em ensaios clínicos de fase III, no entanto, devido a falta de eficácia clínica, nenhum foi aprovado. Encontram-se ainda em ensaio clínico a CAD106, ABVac40, donanemab, gantenerumab, BAN2401, avagacestat, AADvac-1 e HJ8.5.

Relativamente aos ensaios clínicos é importante perceber quais as limitações dos ensaios já desenvolvidos como falhas na metodologia, insuficiente compreensão dos mecanismos envolvidos e inclusão de doentes em diferentes estádios da DA, para que em futuras investigações se possam contornar estas lacunas.

Assim, é fundamental continuar a investigação de novos mecanismos fisiopatológicos, fomentar o conhecimento dos mecanismos já abordados e da relação entre eles, assim

Tratamento da Doença de Alzheimer: na atualidade e no futuro

como dos fatores que desencadeiam a DA. Outra área de extrema importância é o diagnóstico, onde deverão ser realizados mais estudos para identificar novos biomarcadores da doença que terão impacto também na realização dos ensaios clínicos.

IV Bibliografia

- Aisen, P. S., Cummings, J., Jack, C. R., Jr., *et al.* (2017). On the path to 2025: understanding the Alzheimer's disease continuum. *Alzheimers Res Ther* 9(1), pp. 60
- Arbor, S. C., LaFontaine, M. and Cumbay, M. (2016). Amyloid-beta Alzheimer targets - protein processing, lipid rafts, and amyloid-beta pores. *Yale J Biol Med* 89(1), pp. 5-21
- Bondi, M. W., Edmonds, E. C. and Salmon, D. P. (2017). Alzheimer's Disease: Past, Present, and Future. *J Int Neuropsychol Soc* 23(9-10), pp. 818-831
- Briggs, R., Kennelly, S. P. and O'Neill, D. (2016). Drug treatments in Alzheimer's disease. *Clin Med (Lond)* 16(3), pp. 247-253
- Calhoun, A., King, C., Khoury, R., *et al.* (2018). An evaluation of memantine ER + donepezil for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opin Pharmacother* 19(15), pp. 1711-1717
- Carmona, S., Hardy, J. and Guerreiro, R. (2018). The genetic landscape of Alzheimer disease. *Handb Clin Neurol* 148, pp. 395-408
- Chen, G. F., Xu, T. H., Yan, Y., *et al.* (2017). Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta Pharmacol Sin* 38(9), pp. 1205-1235
- Chong, F. P., Ng, K. Y., Koh, R. Y., *et al.* (2018). Tau Proteins and Tauopathies in Alzheimer's Disease. *Cell Mol Neurobiol* 38(5), pp. 965-980
- Congdon, E. E. and Sigurdsson, E. M. (2018). Tau-targeting therapies for Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol* 14(7), pp. 399-415
- Crous-Bou, M., Minguillon, C., Gramunt, N., *et al.* (2017). Alzheimer's disease prevention: from risk factors to early intervention. *Alzheimers Res Ther* 9(1), pp. 71

- Cummings, J. L., Tong, G. and Ballard, C. (2019). Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options. *J Alzheimers Dis* 67(3), pp. 779-794
- Cunningham, E. L., McGuinness, B., Herron, B., *et al.* (2015). Dementia. *Ulster Med J* 84(2), pp. 79-87
- Cuyvers, E. and Sleegers, K. (2016). Genetic variations underlying Alzheimer's disease: evidence from genome-wide association studies and beyond. *Lancet Neurol* 15(8), pp. 857-868
- Deardorff, W. J. and Grossberg, G. T. (2016). A fixed-dose combination of memantine extended-release and donepezil in the treatment of moderate-to-severe Alzheimer's disease. *Drug Des Devel Ther* 10, pp. 3267-3279
- DeTure, M. A. and Dickson, D. W. (2019). The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 14(1), pp. 32
- Dos Santos Picanco, L. C., Ozela, P. F., de Fatima de Brito Brito, M., *et al.* (2016). Alzheimer's disease: A review from the pathophysiology to diagnosis, new perspectives for pharmacological treatment. *Curr Med Chem*, pp.
- Elahi, F. M. and Miller, B. L. (2017). A clinicopathological approach to the diagnosis of dementia. *Nat Rev Neurol* 13(8), pp. 457-476
- EMA. (2020). European Union Clinical Trials Register [Online]. Available: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search> [Accessed 20/9/2020]
- Erkkinen, M. G., Kim, M. O. and Geschwind, M. D. (2018). Clinical Neurology and Epidemiology of the Major Neurodegenerative Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 10(4), pp.
- Eshkoor, S. A., Hamid, T. A., Mun, C. Y., *et al.* (2015). Mild cognitive impairment and its management in older people. *Clin Interv Aging* 10, pp. 687-693

Fauci, A. S., Longo, D. L., Loscalzo, J., *et al.* (2011). Doença de Alzheimer e outras Demências Primárias. In: M.-H. QDR (Ed.) *Harrison'S Principles Of Internal Medicine*. 18 ed., pp. 2540-2548.

Gao, Y., Tan, L., Yu, J. T., *et al.* (2018). Tau in Alzheimer's Disease: Mechanisms and Therapeutic Strategies. *Curr Alzheimer Res* 15(3), pp. 283-300

Greenblat, C. (2019). Dementia [Online]. Available: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/dementia> [Accessed 13/05/2020]

Hane, F. T., Robinson, M., Lee, B. Y., *et al.* (2017). Recent Progress in Alzheimer's Disease Research, Part 3: Diagnosis and Treatment. *J Alzheimers Dis* 57(3), pp. 645-665

Hung, S. Y. and Fu, W. M. (2017). Drug candidates in clinical trials for Alzheimer's disease. *J Biomed Sci* 24(1), pp. 47

Jongsiriyanyong, S. and Limpawattana, P. (2018). Mild Cognitive Impairment in Clinical Practice: A Review Article. *Am J Alzheimers Dis Other Demen* 33(8), pp. 500-507

Jouanne, M., Rault, S. and Voisin-Chiret, A. S. (2017). Tau protein aggregation in Alzheimer's disease: An attractive target for the development of novel therapeutic agents. *Eur J Med Chem* 139, pp. 153-167

Juan, S. M. A. and Adlard, P. A. (2019). Ageing and Cognition. *Subcell Biochem* 91, pp. 107-122

Kametani, F. and Hasegawa, M. (2018). Reconsideration of Amyloid Hypothesis and Tau Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Front Neurosci* 12, pp. 25

Kivipelto, M., Mangialasche, F. and Ngandu, T. (2018). Lifestyle interventions to prevent cognitive impairment, dementia and Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol* 14(11), pp. 653-666

- Kritsilis, M., S, V. R., Koutsoudaki, P. N., *et al.* (2018). Ageing, Cellular Senescence and Neurodegenerative Disease. *Int J Mol Sci* 19(10), pp.
- Lanctot, K. L., Amatniek, J., Ancoli-Israel, S., *et al.* (2017). Neuropsychiatric signs and symptoms of Alzheimer's disease: New treatment paradigms. *Alzheimers Dement (N Y)* 3(3), pp. 440-449
- Livingston, G., Sommerlad, A., Orgeta, V., *et al.* (2017). Dementia prevention, intervention, and care. *Lancet* 390(10113), pp. 2673-2734
- Loera-Valencia, R., Cedazo-Minguez, A., Kenigsberg, P. A., *et al.* (2019). Current and emerging avenues for Alzheimer's disease drug targets. *J Intern Med* 286(4), pp. 398-437
- Loi, S. M., Eratne, D., Kelso, W., *et al.* (2018). Alzheimer disease: Non-pharmacological and pharmacological management of cognition and neuropsychiatric symptoms. *Australas Psychiatry* 26(4), pp. 358-365
- Long, J. M. and Holtzman, D. M. (2019). Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies. *Cell* 179(2), pp. 312-339
- Maia, M. A. and Sousa, E. (2019). BACE-1 and gamma-Secretase as Therapeutic Targets for Alzheimer's Disease. *Pharmaceuticals (Basel)* 12(1), pp.
- Masters, C. L., Bateman, R., Blennow, K., *et al.* (2015). Alzheimer's disease. *Nat Rev Dis Primers* 1, pp. 15056
- Mendiola-Precoma, J., Berumen, L. C., Padilla, K., *et al.* (2016). Therapies for Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease. *Biomed Res Int* 2016, pp. 2589276
- Panza, F., Lozupone, M., Logroscino, G., *et al.* (2019). A critical appraisal of amyloid-beta-targeting therapies for Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol* 15(2), pp. 73-88
- Pimenova, A. A., Raj, T. and Goate, A. M. (2018). Untangling Genetic Risk for Alzheimer's Disease. *Biol Psychiatry* 83(4), pp. 300-310

Ricciarelli, R. and Fedele, E. (2017). The Amyloid Cascade Hypothesis in Alzheimer's Disease: It's Time to Change Our Mind. *Curr Neuropharmacol* 15(6), pp. 926-935

Robinson, M., Lee, B. Y. and Hane, F. T. (2017). Recent Progress in Alzheimer's Disease Research, Part 2: Genetics and Epidemiology. *J Alzheimers Dis* 57(2), pp. 317-330

Sahoo, A. K., Dandapat, J., Dash, U. C., *et al.* (2018). Features and outcomes of drugs for combination therapy as multi-targets strategy to combat Alzheimer's disease. *J Ethnopharmacol* 215, pp. 42-73

Scheltens, P., Blennow, K., Breteler, M. M., *et al.* (2016). Alzheimer's disease. *Lancet* 388(10043), pp. 505-517

Selkoe, D. J. and Hardy, J. (2016). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol Med* 8(6), pp. 595-608

Silva, M. V. F., Loures, C. M. G., Alves, L. C. V., *et al.* (2019). Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures. *J Biomed Sci* 26(1), pp. 33

Simic, G., Babic Leko, M., Wray, S., *et al.* (2016). Tau Protein Hyperphosphorylation and Aggregation in Alzheimer's Disease and Other Tauopathies, and Possible Neuroprotective Strategies. *Biomolecules* 6(1), pp. 6

Suidan, G. L. and Ramaswamy, G. (2019). Targeting Apolipoprotein E for Alzheimer's Disease: An Industry Perspective. *Int J Mol Sci* 20(9), pp.

Takahashi, R. H., Nagao, T. and Gouras, G. K. (2017). Plaque formation and the intraneuronal accumulation of beta-amyloid in Alzheimer's disease. *Pathol Int* 67(4), pp. 185-193

Tangalos, E. G. and Petersen, R. C. (2018). Mild Cognitive Impairment in Geriatrics. *Clin Geriatr Med* 34(4), pp. 563-589

Tatarnikova, O. G., Orlov, M. A. and Bobkova, N. V. (2015). Beta-Amyloid and Tau-Protein: Structure, Interaction, and Prion-Like Properties. *Biochemistry (Mosc)* 80(13), pp. 1800-1819

Uddin, M. S., Kabir, M. T., Al Mamun, A., *et al.* (2019). APOE and Alzheimer's Disease: Evidence Mounts that Targeting APOE4 may Combat Alzheimer's Pathogenesis. *Mol Neurobiol* 56(4), pp. 2450-2465

Van Cauwenberghe, C., Van Broeckhoven, C. and Sleegers, K. (2016). The genetic landscape of Alzheimer disease: clinical implications and perspectives. *Genet Med* 18(5), pp. 421-430

van Dyck, C. H. (2018). Anti-Amyloid-beta Monoclonal Antibodies for Alzheimer's Disease: Pitfalls and Promise. *Biol Psychiatry* 83(4), pp. 311-319

Vogels, T., Murgoci, A. N. and Hromadka, T. (2019). Intersection of pathological tau and microglia at the synapse. *Acta Neuropathol Commun* 7(1), pp. 109

Wolinsky, D., Drake, K. and Bostwick, J. (2018). Diagnosis and Management of Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer's Disease. *Curr Psychiatry Rep* 20(12), pp. 117

Wurster, C. D. and Ludolph, A. C. (2018). Antisense oligonucleotides in neurological disorders. *Ther Adv Neurol Disord* 11, pp. 1756286418776932

Yamazaki, Y., Zhao, N., Caulfield, T. R., *et al.* (2019). Apolipoprotein E and Alzheimer disease: pathobiology and targeting strategies. *Nat Rev Neurol* 15(9), pp. 501-518

Zhao, N., Liu, C. C., Qiao, W., *et al.* (2018). Apolipoprotein E, Receptors, and Modulation of Alzheimer's Disease. *Biol Psychiatry* 83(4), pp. 347-357