

**Universidade de Lisboa**

**Faculdade de Farmácia**



# **Papel das células da glia nas doenças neurodegenerativas**

**Catarina dos Santos Correia Garcia**

**Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas**

**2019**

**Universidade de Lisboa**

**Faculdade de Farmácia**



# **Papel das células da glia nas doenças neurodegenerativas**

**Catarina dos Santos Correia Garcia**

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas  
apresentada à universidade de Lisboa através da Faculdade de  
Farmácia**

**Orientador: Doutor Rui Fernando Marques da Silva, Professor  
Auxiliar**

**2019**



## Resumo

O tema da presente monografia é “O papel das células da glia nas doenças neurodegenerativas”. Existe um crescimento contínuo da população idosa devido ao aumento da esperança média de vida que, embora seja um aspeto favorável, apresenta também consequências indesejáveis como a incidência e prevalência dos eventos neurodegenerativos que têm vindo a sofrer um aumento significativo na população. Por este motivo aquelas patologias constituem um grave problema de saúde pública, com impacto quer a nível social, quer a nível económico.

A doença neurodegenerativa que sofre maior destaque é a doença de Alzheimer, sendo a 3º maior causa de morte em Portugal, embora a doença de Parkinson, a esclerose múltipla e a esclerose lateral amiotrófica também apresentem um realce significativo.

Nos últimos anos, as células da glia e os seus mecanismos quer fisiológicos, quer patológicos, têm vindo a ser intrinsecamente relacionados com os processos neurodegenerativos. As funções e défices associados a estas células têm vindo a ser alvos de estudo, contribuindo assim para a identificação de novas vias fisiopatológicas, processos na neuroprotecção e potenciais alvos terapêuticos.

A presente monografia foca-se essencialmente na contribuição das células da glia nas doenças de Alzheimer e de Parkinson. A doença de Alzheimer foi descrita pela primeira vez em 1901 por Alois Alzheimer e é caracterizada pela presença de défices cognitivos severos, bem como pela forte presença de placas extracelulares do péptido  $\beta$ -amilóide e tranças neurofibrilares intracelulares da proteína tau hiperfosforilada no tecido nervoso. A doença de Parkinson é a segunda doença neurodegenerativa mais comum, manifestando-se essencialmente através de sintomas motores e não-motores. A doença foi descrita pela primeira vez em 1817 por James Parkinson e é caracterizada pela morte dos neurónios dopaminérgicos na “*Substantia Nigra*” na “*Pars compacta*” do tronco cerebral.

Até ao momento não existem opções terapêuticas que curem ou impeçam a progressão das doenças referidas, existindo apenas fármacos que permitem alguma estabilização do funcionamento cognitivo, nas fases mais precoces da doença e fármacos para os sintomas secundários associados. Novas moléculas têm vindo a ser desenvolvidas no âmbito de impedir ou retardar a progressão das atividades neurodegenerativas, algumas das quais incluem as células da glia ou as suas vias de ação.

**Palavras chave:** Células da glia; Alzheimer; Parkinson; Neurodegeneração; Neuroprotecção



## ***Abstract***

*The theme of this monograph is "The role of glial cells in neurodegenerative diseases". There is a steady growth in the elderly population due to the increase in average life expectancy, which, although favorable, also has undesirable consequences like the incidence and prevalence of neurodegenerative events that has been significantly increasing in the population, and for this reason they constitute a serious public health problem, impacting both socially and economically.*

*Among the neurodegenerative diseases, Alzheimer's disease is the most prominent, being the 3rd leading cause of death in Portugal, although Parkinson's disease, multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis also present a significant enhancement.*

*In recent years, glial cells and their physiological and pathological mechanisms have been intrinsically related to neurodegenerative processes. The functions and deficits associated with these cells have been studied, thus contributing to the identification of new pathophysiological pathways, neuroprotection processes and potential therapeutic targets.*

*The present monograph focuses essentially on the contribution of glial cells in Alzheimer's and Parkinson's diseases. Alzheimer's was first described in 1901 by Alois Alzheimer's and is characterized by the presence of severe cognitive deficits as well as the strong presence of  $\beta$ -amyloid peptide extracellular plaques and intracellular neurofibrillary tangles of hyperphosphorylated tau protein in nervous tissue. Parkinson's disease is the second most common neurodegenerative disease, manifesting essentially through motor and non-motor symptoms. The disease was first described in 1817 by James Parkinson and is characterized by the death of dopaminergic neurons in Substantia Nigra in Pars compacta.*

*So far there are no therapeutic options that cure or prevent the progression of the referred diseases, there are only drugs that allow some stabilization of cognitive functioning in the earliest stages of the disease and drugs for the associated secondary symptoms. New molecules have been developed to prevent or slow the progression of neurodegenerative activities, some of which include glial cells or their pathways of action.*

***Keywords:*** *Glial cells; Alzheimer's; Parkinson's; Neurodegeneration; Neuroprotection*



# Índice geral

<b>Resumo .....</b>	<b>4</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>6</b>
<b>Lista de figuras .....</b>	<b>10</b>
<b>Lista de tabelas.....</b>	<b>3</b>
<b>Lista de abreviaturas.....</b>	<b>2</b>
<b>I. Introdução.....</b>	<b>2</b>
<b>II. Materiais e métodos de pesquisa.....</b>	<b>4</b>
1. Critérios de inclusão .....	4
2. Critérios de exclusão .....	4
<b>III. Enquadramento teórico .....</b>	<b>5</b>
1. Alzheimer .....	5
1.1. Fisiopatologia.....	5
1.1.1. Placas amiloides.....	5
1.1.2. Hiperfosforilação da proteína tau .....	6
1.1.3. Stress oxidativo.....	6
1.1.4. Neuroinflamação .....	7
1.1.5. Disfunção mitocondrial .....	7
1.1.6. Doença vascular.....	8
1.2. Fatores de risco .....	8
1.3. Biomarcadores.....	8
1.4. Tratamento farmacológico .....	10
1.5. Tratamento não farmacológico .....	12
2. Parkinson.....	13
2.1. Fisiopatologia.....	13
2.2. Etiologia, sinais e sintomas.....	14
2.3. Tratamento.....	15
3. Células da glia .....	17
3.1. Astrócitos.....	17
3.2. Microglia .....	20
3.3. Oligodendrócitos .....	21
3.4. Células endimárias.....	22
<b>IV. Células da glia nas doenças neurodegenerativas .....</b>	<b>23</b>
1. Células da glia no Alzheimer .....	23
1.1. Astrócitos na DA .....	23
1.2. Microglia .....	27
1.3. Oligodendrócitos .....	30
1.4. Células endimárias.....	31
2. Células da glia na Parkinson.....	35
2.1. Astrócitos na DP .....	35
2.2. Microglia na DP.....	38
2.3. Oligodendrócitos .....	41
<b>V. Discussão, conclusão e perspectivas futuras .....</b>	<b>42</b>
<b>VI. Referencias bibliográficas .....</b>	<b>44</b>



## **Lista de figuras**

<b>Figura 1</b> - Contribuição da astroglia nos diferentes estágios da doença de Alzheimer	<b>41</b>
<b>Figura 2</b> – Desequilíbrio nos fenótipos M1 e M2 da microglia na doença de Alzheimer e suas ações e consequências	<b>44</b>
<b>Figura 3</b> – Mecanismos e vias patológicas do plexo coroide na DA	<b>48</b>
<b>Figura 4</b> – Diferentes fenótipos da microglia envolvidos na DP. Descrição das diferentes morfologias e das respectivas funções	<b>53</b>



## **Lista de tabelas**

<b>Tabela 1</b> – Biomarcadores envolvidos no diagnóstico da doença de Alzheimer	<b>23</b>
<b>Tabela 2</b> – Tabela resumo do tratamento farmacológico associado à função cognitiva, com descrição do estágio da doença onde se inserem, mecanismo de ação, tempo de semi-vida, dose inicial, escalção das doses, interações medicamentosas relevantes, dosagem recomendada e efeitos adversos mais frequentes	<b>25</b>
<b>Tabela 3</b> – Genes e respectivas proteínas, suas funções e hereditariedade, envolvidas na doença de Parkinson	<b>28</b>
<b>Tabela 4</b> – Descrição detalhada e caracterização da ativação microglial das proteínas envolvidas na doença de Parkinson	<b>51-52</b>
<b>Tabela 5</b> – Descrição detalhada de alguns mecanismos de neuroproteção da microglia na doença de Parkinson	<b>53</b>

## Lista de abreviaturas

<b>AA</b> – Ácido araquidónico	<b>DA</b> – Doença de Alzheimer
<b>AChE</b> – Acetilcolinesterase	<b>DAT</b> – Transportador da dopamina
<b>ANN</b> – Academia americana de neurologia	<b>DGS</b> – Direção Geral de Saúde
<b>AP</b> – Proteína ativadora	<b>DN</b> – Doenças neurodegenerativas
<b>APO</b> – Apolipoproteína	<b>DNA</b> – Ácido desoxirribonucleico
<b>APP</b> – Proteína precursora amiloide	<b>DP</b> - Doença de Parkinson
<b>ATP</b> – Adenosina trifosfato	<b>FGF</b> – Fator de crescimento fibroblástico
<b>AVC</b> – Acidente Vascular Cerebral	<b>GABA</b> - Ácido gama-aminobutírico
<b>A<math>\beta</math></b> - Beta-amiloide	<b>GFAP</b> - Fator neurotrófico derivado da linha glial
<b>A1/A2</b> – Espécie reativa dos astrócitos	<b>GLUT</b> – Transportador da glucose
<b>BACE</b> - Enzima beta-secretase	<b>GSH</b> – Glutationa SH
<b>BCC</b> - Bloqueadores dos canais de cálcio	<b>HDL</b> – Lipoproteína de alta densidade
<b>Bcl</b> – Linfoma das células B	<b>HTA</b> – Hipertensão arterial
<b>BDNF</b> – Fator neurotrófico derivado do cérebro	<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> – Peróxido de Hidrogénio
<b>BHE</b> – Barreira Hematoencefálica	<b>IAP</b> – Inibidores da apoptose proteica
<b>BuChE</b> – Butirilcolinesterase	<b>IFN</b> - Interferão
<b>COMT</b> – Catecol O-metiltransferase	<b>IGF</b> – Fator de crescimento da insulina
<b>COX</b> – Cicloxigenase	<b>IL</b> – Interleucina
<b>CP</b> – Plexo coroide	<b>iNOS</b> – Óxido nítrico sintetase
<b>CSF</b> – Fator estimulador de colónias	<b>K<sup>+</sup></b> - Potássio
<b>CYP</b> – Citocromo P450	<b>LB</b> – Corpos de <i>Lewy</i>
<b>Ca<sup>2+</sup></b> - Cálcio	

<b>LCR</b> - Líquido Cefalorraquidiano	<b>NO</b> – Óxido nítrico
<b>LN</b> – Neurites de <i>Lewy</i>	<b>OPC</b> - Célula precursora de oligodendrócitos
<b>LPS</b> - Lipopolissacarídeo	<b>PET</b> – Tomografia por emissão de positrões
<b>LRRK</b> – Receptor quinase de repetição rico em leucina	<b>PG</b> – Prostaglandina
<b>MANF</b> – Fator neurotrófico mesoencefálico derivado dos astrócitos	<b>PRR</b> – Recetor de reconhecimento de padrões
<b>MAO</b> – Monoamina oxidase	<b>RNA</b> – Ácido ribonucleico
<b>MCT</b> – Transportador monocarboxilase	<b>ROS</b> – Espécies reativas de oxigénio
<b>MHC</b> – Complexo de histocompatibilidade	<b>SNC</b> – Sistema nervoso central
<b>MPTP</b> – 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinico	<b>SNP</b> – Sistema nervoso periférico
<b>MRP</b> - Proteína de resistência a multidrogas	<b>TGF</b> – Fator de transformação de crescimento
<b>M1</b> – Ativação clássica da microglia	<b>TLR</b> - Recetores do tipo Toll
<b>M2</b> – Ativação alternativa da microglia	<b>TNF</b> – Fator de necrose tumoral
<b>MPP<sup>+</sup></b> - 1-metil-4-fenilpiridinio	<b>TREM</b> – Recetor desencadeado expresso nas células mieloides
<b>NF</b> – Fator nuclear	<b>VEGF</b> – Fator de crescimento vascular endotelial
<b>NFT</b> – Novos neurofibrilares	<b>WHO</b> – Organização mundial de saúde
<b>NGF</b> – Fator de crescimento nervoso	
<b>NMDA</b> – N-metil-D-aspartato	

## I. Introdução

As doenças do foro neurológico são as que apresentam maior impacto a nível mundial (6.3%). A nível Europeu as doenças neurodegenerativas representam 11,2% da totalidade das doenças neurológicas, e pensa-se que em 2020 atinjam o valor de 14,7%. Estes valores, na prática, representam a perda entre 15-30 anos de vida e/ou incapacidade por cada 1000 habitantes por ano. As doenças neurodegenerativas como é o exemplo da doença de Alzheimer (DA) e da doença de Parkinson (DP), para além do forte impacto na saúde, na sociedade e a nível económico, são as que apresentam maiores tendências de crescimento associadas ao envelhecimento da população. As doenças do sistema nervoso apresentam uma elevada taxa de mortalidade (13%) e morbidade, pois estão intimamente relacionadas com sequelas cognitivas, comportamentais, motoras, sensitivas e autonómicas (47).

A doença neurodegenerativa com maior prevalência a nível mundial, europeu e nacional é a DADA (1). Esta doença foi identificada pela primeira vez em 1906 por Alois Alzheimer. É uma doença irreversível e progressiva na qual ocorre lentamente e de forma significativa, perda de memória e de competências comportamentais (32). Esta doença é a principal causa de demência e é caracterizada pela presença de placas amiloides no meio extracelular e tranças neurofibrilares (NFT's) no meio intracelular (20). Os fatores de riscos associados á doença são de carater genético (APOE), ambiental e influenciados pelo estilo de vida (11)(60). O diagnóstico da mesma é pouco objetivo, é feito com base nas funções cognitivas e comportamentais, sendo identificado, consoante os testes mencionados, o estágio em que a doença se encontra: precoce, moderado ou severo (7)(67). Atualmente não existem opções terapêuticas que impeçam ou retardem a progressão da doença e dos seus mecanismos fisiopatológicos, existindo apenas restritas opções cujo principal objetivo é intervir na sua sintomatologia, quer direta, associada às funções cognitivas e comportamentais, quer secundária, como é o caso da depressão, ansiedade e insónia (9). Por este motivo estudos clínicos e de investigação têm vindo a ser desenvolvidos, onde foram identificadas potenciais opções terapêuticas, no entanto poucas ou nenhuma demonstraram benefícios clínicos relevantes (20). Assim sendo, apesar da forte evolução nos últimos anos, continua a existir a necessidade de um maior investimento clínico, cuja finalidade incide numa melhor gestão da doença e para tal é prioritário diagnosticar o mais precocemente possível, realizar apoio financeiro e social aos familiares e pacientes e atingir

metas terapêuticas que travem ou abrandem a progressão da doença de uma forma mais eficaz (20)(7).

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum, logo a seguir à DA. A nível mundial estima-se que 1% da população com idade superior a 65 anos sofre de DP e em Portugal foram reportados 18 000 casos em 2014 (14). Esta doença foi identificada pela primeira vez por James Parkinson em 1817. A sua etiologia é ainda pouco concisa mas admite-se que resulta de uma conjugação de fatores ambientais e genéticos (35). O principal fator risco da doença é a idade, ou seja, a probabilidade de desenvolver a doença aumenta com o envelhecimento ainda que a história familiar também tenha um papel participativo, além do mais, os indivíduos do sexo masculino constituem também um grupo de risco (66). Tal como na DA, a DP apresenta um diagnóstico pouco objetivo, os sintomas associados são predominantemente motores: acinésia, bradicinésia, tremor, rigidez, instabilidade postural e alteração da marcha, ainda que seja reportada também sintomatologia não motora: alterações do sono, sexuais e autonómicas (14). A DP é caracterizada pela morte das células neurais dopaminérgicas na *substantia nigra* na região *pars compacta* (27). No que diz respeito ao tratamento, mais uma vez, as opções existentes focam-se nos sintomas, quer motores quer não motores, ainda que na DP ao contrário da DA, exista como opção o tratamento cirúrgico. No entanto não existe nenhuma opção suficientemente eficaz que impeça a progressão da doença (23).

Recentemente, foi descrito o papel participativo das células da glia nas doenças acima mencionadas (62). As células da glia são vizinhas das células neurais, partilhando entre si mecanismos e processos fundamentais na homeostasia da função cerebral. Por este motivo existe um elevado interesse clínico nas mesmas no que se refere à sua intervenção nas doenças neurodegenerativas. A glia subdivide-se em astrócitos, microglia, oligodendrócitos e células endimárias no SNC e células de schwann e satélite no SNP (2). Por motivos estruturais as células de maior interesse e abordadas na presente monografia, são as células presentes no SNC (31). Ao longo dos estudos realizados, foram identificados para além de inúmeras atividades funcionais de suporte metabólico e energético, a regulação de neurotransmissores, a defesa imunitária contra corpos e substâncias estranhas e as ações de carácter neurotóxico (16). Assim, a glia para além de desempenhar um papel neuroprotetor também contribui para a neurodegeneração e toxicidade nas doenças do foro neurológico (58). Após a análise dos factos descritos, a glia e os seus mecanismos fisiológicos e patológicos passaram também a ser alvo de investigação e a constituir potenciais alvos para o desenvolvimento de novas opções terapêuticas (57)(34)(32)(8)(72)(24).

## **II. Materiais e métodos de pesquisa**

A presente monografia constitui uma revisão bibliográfica baseada em artigos científicos, resumos das características do medicamento, prontuário terapêutico, relatórios, ensaios clínicos, entre outros.

### **1. Critérios de inclusão**

Na elaboração desta monografia foram utilizados termos de pesquisa como “neurodegeneration”, “Alzheimer”, “Parkinson”, “Glial cells function”, “Glial cells in neurodegeneration”, “Astrocytes”, “Microglia”, “Oligodendrocytes”, “Neuroprotection”, “Neurotoxicity” e “Ependymal cells”.

Foram revistos e analisados 72 artigos, preferencialmente entre os anos de 2010-2019, em língua portuguesa e inglesa. A maioria destas fontes bibliográficas foram obtidas através da base de dados Pubmed, NCBI e MEDLINE, no período entre Março e Agosto de 2019. Os critérios de inclusão consistiram na abordagem dos mesmos no que se refere ao papel e importância das células da glia nas doenças neurodegenerativas, mais especificamente, na doença de Alzheimer e doença de Parkinson.

### **2. Critérios de exclusão**

Tendo em consideração o elevado número de materiais e informação disponível, foram excluídos artigos cuja fonte não fosse segura, o rigor científico fosse pouco consistente ou o ano de publicação não garantisse a atualização da informação concebida.

Alguns dados foram retirados da WHO e da DGS e o programa utilizado para a organização e gestão das referências bibliográficas utilizadas foi o *Mendley Desktop*<sup>®</sup>, versão 1.19.4, formato Vancouver.

### **III. Enquadramento teórico**

#### **1. Alzheimer**

Alzheimer é uma doença crónica neurodegenerativa do SNC. É a demência mais comum e prevalente, principalmente na população idosa, representando por esta razão um problema grave de saúde pública. A doença é caracterizada pela perda progressiva de memória, desorientação, compreensão, capacidade de aprendizagem e marcadores patológicos: as placas senis e NFT's; estes marcadores foram identificados como os principais fatores da morte progressiva neural (60)(39). A sua fisiopatologia ainda não está totalmente esclarecida visto que se trata de uma doença complexa e heterogénea, na qual estão envolvidos múltiplos fatores incluindo fatores hereditários, neurotransmissores, fatores imunes e fatores ambientais (11)(32)(45).

##### **1.1. Fisiopatologia**

A doença de Alzheimer é uma patologia neurodegenerativa cujo mecanismo ainda se encontra em estudo tendo sido formuladas numerosas hipóteses com o objetivo de clarificar o mecanismo fisiopatológico da doença. Atualmente, a hipótese melhor aceite e mais estudada é a referente à formação e acumulação de placas  $\beta$ -amiloides no meio extracelular das células neurais. Os estudos mostram que a formação de novos neurofibrilas da proteína Tau no meio extracelular desempenha também um papel importante na neurotoxicidade associada à doença. Existem também outras hipóteses recentemente formuladas tais como: stress oxidativo, neuroinflamação, disfunção mitocondrial e doença vascular (11)(60)(45)(67).

##### **1.1.1. Placas amiloides**

A proteína precursora amiloide (APP) localiza-se na membrana das células neurais, sendo responsável pelo crescimento e reparação das mesmas. Tratando-se de uma proteína, ao longo do tempo vai surgindo a necessidade de ser substituída ou reparada e para o efeito ocorre a clivagem pelas enzimas alfa e gama-secretase, dando origem a segmentos solúveis sem efeitos nocivos. Porém, quando a clivagem ocorre através das enzimas gama-secretase e  $\beta$ -secretase originam-se péptidos amiloide insolúveis que se depositam formando placas na fenda sináptica das células nervosas, causando assim uma disfuncionalidade na comunicação entre estas com consequências nocivas (1)(60)(11).

### **1.1.2. Hiperfosforilação da proteína tau**

A acumulação da proteína tau nos tecidos nervosos dos doentes com Alzheimer foi descrita pela primeira vez em 1986 (32). Aquela é uma proteína altamente solúvel, intimamente relacionada com os microtúbulos e as suas funções que, em condições fisiológicas, consistem na sua estabilização. Os microtúbulos conferem suporte em alterações estruturais, no transporte axonal e no crescimento neural.

No SNC a proteína tau apresenta 6 isoformas que variam no seu número de ligações aos microtúbulos. O principal mecanismo patológico associado a esta proteína consiste na sua hiperfosforilação que tem como resultado a agregação do citoesqueleto; a hiperfosforilação resulta sobretudo do aumento da atividade das proteínas quinase (11). Este mecanismo leva a uma menor interação com os microtúbulos o que favorece a sua agregação e, conseqüentemente, um deficiente transporte axonal e por fim, morte neural. Estudos demonstraram que a formação de placas amiloides e os NFT's são os principais mecanismos fisiopatológicos envolvidos na doença de Alzheimer (32)(39)(45)(67).

### **1.1.3. Stress oxidativo**

As doenças neurodegenerativas são fortemente caracterizadas pela presença de stress oxidativo, existindo uma forte ligação entre este e a apoptose neural (32). O stress oxidativo resulta do desequilíbrio entre a produção de ROS e os níveis de antioxidantes, sendo a consequência deste desequilíbrio o dano celular.

As espécies reativas de oxigénio interagem com moléculas biológicas como os ácidos nucleicos, proteínas, lípidos e organelos celulares. A acumulação de radicais livres, o dano resultante, a alteração da atividade e expressão de enzimas antioxidantes tais como a superóxido dismutase e catalase são mecanismos patológicos significativamente presentes na Alzheimer (11). Apesar dos processos que envolvem este desequilíbrio ainda não estarem totalmente esclarecidos, foi demonstrado que a acumulação anormal da proteína  $\beta$ -amiloide promove a formação de espécies reativas de oxigénio através de um mecanismo que envolve simultaneamente a ativação dos recetores NMDA, e as ROS estimulam o aumento da produção de  $\beta$ -amiloide e a sua agregação, assim como facilitam a hiperfosforilação da proteína tau, entrando num ciclo vicioso que promove a progressão da doença (45).

#### **1.1.4. Neuroinflamação**

As razões que levam à presença de neuroinflamação são diversas. É conhecido que a ativação dos astrócitos e da microglia desencadeada pela doença leva a uma reação imune exacerbada, provocando a produção crônica de radicais livres e citocinas pró-inflamatórias que levam a um desfecho trágico, a morte neural (11)(39)(67)(9).

A microglia é uma célula da glia e representa 10-15% das células presentes no cérebro. De uma forma geral estas células são responsáveis pela defesa imune, desempenhando um papel crucial em anomalias, lesões e doenças do foro neurológico. Num cérebro saudável estas células encontram-se no seu estado de repouso, mas quando ativadas podem diferenciar-se em dois subtipos: M1, o clássico e M2, o alternativo (11). O seu estado ativado M1 é responsável pela secreção de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral- $\alpha$ , interleucina (IL)-6, IL-1 $\beta$  quimiocinas, ROS, e proteínas de fase aguda, com o propósito de eliminar agentes invasores e patogénicos. Por outro lado, a microglia M2 ativada mantém a homeostasia através da regulação dos efeitos das citocinas pró-inflamatórias, libertando para o efeito citocinas anti-inflamatórias. Assim as células M1 circundam as placas amiloides nos tecidos cerebrais desencadeando uma resposta inflamatória na tentativa de eliminá-las; contudo a libertação de citocinas, a ativação e a fagocitose dos detritos, afeta as células do meio envolvente causando perda da plasticidade das sinapses, promovendo taupatas e suprimindo a eliminação dos agregados amiloides, levando assim à perda neural tão característica da Alzheimer (11)(39).

#### **1.1.5. Disfunção mitocondrial**

A importância do papel funcional da mitocôndria é bem conhecida, não só pelo fornecimento de ATP, como pela manutenção da homeostasia do ião  $Ca^{2+}$ , pela ativação intrínseca da apoptose através da libertação do citocromo c, pela modificação do potencial oxidação-redução das células e pela regulação do stress oxidativo. Contudo apesar do papel contributivo descrito anteriormente, a mitocôndria também pode contribuir para a morte neural em caso de doença neurodegenerativa como a Alzheimer. Este processo envolve mecanismos tais como a alteração da dinâmica mitocondrial e processos de biogénese, falhas na manutenção do ião  $Ca^{2+}$ , mutações no ADN mitocondrial, ativação incorreta da apoptose e stress oxidativo. Existem também evidências significativas que mostram que a presença da proteína tau hiperfosforilada e as placas amiloides podem ter consequências diretas no funcionamento da mitocôndria (11)(67)(9)(1). O péptido amiloide apresenta a capacidade de penetrar as mitocôndrias e interagir com o seu interior causando anomalias nas suas proteínas, diminuir a atividade

eletrônica dos seus canais, interagir com o ciclo do ácido cítrico e gerar ROS favorecendo stress oxidativo, descrito anteriormente (39).

#### **1.1.6. Doença vascular**

Os fatores de risco vasculares tais como o índice de massa corporal, fumar, hipercolesterolemia e HTA têm vindo a ser associados ao desenvolvimento da Alzheimer (11). A HTA em específico está intrinsecamente associada ao aparecimento de marcadores da doença tais como a formação de NFT's. Estudos mostram que estas lesões vasculares podem afetar diretamente as placas amiloides ou os NFT's, aumentando a sua formação ou reduzindo a sua eliminação do cérebro. Assim, evidências mostram que diminuindo os fatores de risco associados à doença vascular é possível diminuir a progressão da Alzheimer, ainda que estas sejam clinicamente pouco significativas (9).

### **1.2. Fatores de risco**

O risco de desenvolver Alzheimer é multifatorial, existindo dois tipos de fatores de risco, os evitáveis e os não evitáveis. Fatores genéticos e associados ao envelhecimento fazem parte dos fatores de risco não evitáveis, no que diz respeito à diabetes tipo 2, obesidade, doenças cardiovasculares, hábitos tabágicos, vida sedentária e obesidade são fatores que podem ser controlados e deste modo diminuir o risco de contrair a doença (1).

### **1.3. Biomarcadores**

Aproximadamente 20% dos indivíduos com doença de Alzheimer não estão diagnosticados. O papel dos biomarcadores tem vindo a sofrer um aumento da sua importância no processo de diagnóstico da doença (67).

**Tabela 1** – Biomarcadores envolvidos no diagnóstico da doença de Alzheimer (67)

Teste	Características
Imagem estrutural	<p>A <i>American academy of neurology</i> (AAN) recomenda a avaliação da estrutura cerebral por imagem em indivíduos com diminuição cognitiva. A ressonância magnética é preferida à tomografia computacional devido à sua elevada sensibilidade a: atrofia, doença cerebrovascular e neoplasia. Alterações estruturais devido à disfunção ou sua lesão são identificadas cerca de 10 anos antes dos primeiros sintomas. A atrofia temporal mesial e uma atrofia global associada ao aumento ventricular, em estágios avançados, são sugestivos de DA.</p>
Imagem funcional do cérebro	<p><i>Fluorodeoxyglucose positron emission tomography</i> (PET) e <i>single-photon emission computed tomography</i> são testes de imagem que refletem a disfunção neural. Alterações no metabolismo da glucose podem ser detetadas até aproximadamente 5 anos antes do aparecimento dos sintomas. Na presença de Alzheimer são identificadas hiperperfusão e/ou hipometabolismo nas áreas temporoparietais. O PET apresenta uma elevada sensibilidade, cerca de 88-94%, mas com uma baixa especificidade o que poderá dar origem a falsos positivos, atualmente estes testes de imagem são aprovados apenas para diferenciar a DA da demência frontotemporal</p>
LCR	<p>Os biomarcadores incluem os níveis de <math>A\beta</math> e tau, estes são detetáveis 15 a 20 anos antes do aparecimento dos primeiros sintomas. O perfil do LCR é 85-90% sensível e específico na DA. <math>A\beta_{42}</math> é o marcador <math>\beta</math>-amilóide e T-tau é o marcador de lesão neural. Níveis baixos de <math>A\beta_{42}</math> conferem melhores prognósticos do défice cognitivo e níveis elevados de T-tau refletem o intenso dano neural. A elevação dos níveis de P-tau está associada a um mais rápido declínio clínico e correlacionado com a atrofia do hipocampo. Este teste é um procedimento invasivo visto que é requerida uma punção lombar.</p>
PET $\beta$ -amilóide	<p>A deposição <math>\beta</math>-amilóide começa cerca de 20 anos antes do aparecimento dos primeiros sintomas, do aparecimento de atrofia cerebral e anormalidades nos testes de imagem da função cerebral, este teste apresenta 88-98% de sensibilidade e 88-100% de especificidade, permitindo a deteção da deposição das placas <math>A\beta</math> em estados moderados a severos. Embora este teste apresente uma elevada sensibilidade e especificidade não se encontra aprovado devidos aos seus elevados custos, sendo apenas utilizado em estudos de pesquisa.</p>

## **1.4. Tratamento farmacológico**

### **1.4.1. Tratamento farmacológico associado à função cognitiva**

#### **Inibidores da colinesterase**

A utilização dos inibidores de colinesterase é baseada no déficit colinérgico observado na doença. A utilização destes inibidores aumenta a concentração de acetilcolina, permitindo assim uma melhor e mais eficiente transmissão sináptica, este mecanismo ocorre através do bloqueio da ação das enzimas responsáveis pela hidrólise da acetilcolina: acetilcolinesterases, que num indivíduo saudável evitam a hiperexcitabilidade celular que pode ter resultados tóxicos para as células provocando a sua morte (50)(9). Esta terapêutica é tipicamente instituída em estados medianos da doença, tendo sido observados resultados benéficos no distúrbio comportamental dos doentes, uma melhoria nos estados de psicose, agitação e temperamento (60). Os inibidores da colinesterase disponíveis para uso clínico são o donepezilo, a tacrina, a galantamina e a rivastigmina (22). A tacrina foi o primeiro inibidor a ser utilizado para o efeito terapêutico, no entanto caiu em desuso devido ao seu acentuado efeito hepatotóxico. Pelo motivo enumerado anteriormente, a rivastigmina, o donepezilo e a galantamina ganharam especial destaque, sendo atualmente os fármacos mais utilizados (ver tabela 2). Na sua generalidade, os efeitos cognitivos e funcionais apresentam resultados modestos variáveis, um terço dos pacientes não mostram benefícios significativos e uma proporção mais pequena mostra benefícios acentuados, existem ainda uma baixa percentagem de doentes que mostram intolerância aos inibidores da colinesterase devido aos seus efeitos adversos (60)(9)(1).

#### **Antagonistas do recetor NMDA**

A memantina é um antagonista do recetor NMDA e a sua ação incide na modulação do neurotransmissor glutamato, bloqueando os seus efeitos tóxicos que resultam da excessiva ativação do mesmo. Este fármaco está aprovado preferencialmente para estados moderados a severos da doença, tendo sido demonstrado que a memantina, nos estados referidos, apresenta um efeito benéfico relativamente pequeno, mas significativo, na função cognitiva, comportamental, nas atividades do quotidiano e nas suas funções de uma forma geral. Os efeitos adversos que caracterizam este fármaco, ainda que ocorram com alguma raridade, são: confusão, dores de cabeças e tonturas (10)(9)(1)(71).

**Tabela 2** – Tabela resumo do tratamento farmacológico associado à função cognitiva, com descrição do estágio da doença onde se inserem, mecanismo de ação, tempo de semi-vida, dose inicial, escalação das doses, interações medicamentosas relevantes, dosagem recomendada e efeitos adversos mais frequentes (60)(67)

	<b>Donepezilo</b>	<b>Galantamina</b>	<b>Rivastigmina</b>	<b>Memantina</b>
Estágio da doença	Leve a moderado	Leve a moderado	Leve a moderado	Moderado a severo
Mecanismo de ação	Inibição seletiva da AChE	Inibição seletiva da AChE e modulação alostérica do recetor da nicotina	Inibição reversível e lenta da AChE e BuChE	Antagonista não competitivo do recetor NMDA
Tempo de semi-vida	Longo (70 horas)	Pequeno (7-8 horas)	Muito pequeno (1 hora)	Longo (60 a 100 horas)
Dose inicial	5 mg por dia	8 mg por dia	1,5 mg a cada 12 horas	5 mg por dia
Escalação das doses	4 a 6 semanas	A cada 4 semanas até à dose recomendada	A cada 2 semanas até à dose recomendada	A cada semana até a dose recomendada
Interações medicamentosas relevantes	Inibidores da CYP3A4 (itraconazol e eritromicina) e CYP2D6 (fluoxetina)	Colinomiméticos (donepezilo, rivastigmina, piridostigmina)	Colinomiméticos (oxibutinina) e $\beta$ –bloqueadores (atenolol), antiarrítmicos de classe III e BCC	Agonistas dopaminérgicos e colinérgicos, barbitúricos e neurolépticos
Dosagem recomendada	10 mg por dia	16-24 mg por dia	6-12 mg por dia	20 mg por dia
Efeitos adversos mais frequentes	Náuseas, vômitos, diarreia e cefaleias	Náuseas, vômitos e diarreia	Náuseas, vômitos e diarreia	Sonolência, obstipação, tonturas, dispneia, HTA e cefaleias

#### **1.4.2. Tratamento dos sintomas não cognitivos**

Ansiedade, insónia, psicose, depressão e disfunção comportamental são sintomas fortemente prevalentes na doença de Alzheimer. No sentido de gerir os sintomas descritos, que afetam consideravelmente a qualidade de vida do doente, são utilizados antidepressivos e ansiolíticos. Inibidores da recaptção da serotonina, tais como escitalopram, sertalina e citalopram são alguns exemplos dos antidepressivos mais aplicados, a risperidona, quetiapina, olanzapina e aripripazol são exemplos de antipsicóticos. Existem ainda evidências que demonstram a eficácia do metilfenidato no tratamento da apatia, e evidências que sugerem benefícios dos hipnóticos não benzodiazepínicos tais como zolpidem e agentes antidepressivos como a trazodona na desordem do sono (60)(67)(1)(10).

#### **1.5. Tratamento não farmacológico**

Estratégias que se baseiam em alterações e ajustes no estilo de vida dos doentes com Alzheimer que incluem a prática regular de atividade física, realização de desafios mentais, socialização, e uma estabilidade dos ciclos do sono são fatores preventivos cruciais na gestão da doença e dos sintomas associados. A prática de exercício físico de carácter aeróbio e uma alimentação equilibrada e rica em ácidos gordos insaturados, antioxidantes, carotenoides, vitaminas, minerais e polifenóis demonstrou efeitos neuroprotetores. Todos estes fatores interferem na agregação amiloide, aumentando a sua eliminação, e no stress oxidativo, diminuindo a acumulação de espécies reativas de oxigénio (60)(67).

## 2. Parkinson

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum e uma das maiores causas de mortalidade e incapacidade a nível mundial, apresentando por isso um impacto significativo a nível clínico e socioeconómico (72). A DP afeta 1-2 pessoas em 1000 e a prevalência aumenta 1% com a idade, em indivíduos com mais de 60 anos e ainda 5-10% apresentam predisposição genética (64)(41).

### 2.1. Fisiopatologia

A doença é caracterizada pela morte dos neurónios dopaminérgicos, na substância negra (*substantia nigra*) mais especificamente na região compacta (*Pars compacta*) do tronco cerebral e pela presença de agregados proteicos no meio intracelular denominados corpos de Lewy (LB's) (27). O maior componente dos LB's são os agregados da  $\alpha$ -sinucleína na sua forma *misfolded*. Esta proteína localiza-se, maioritariamente, nos axónios e nas terminações axonais, apresenta elevada afinidade para as membranas das vesículas sinápticas e está envolvida na neurotransmissão de dopamina por meio de uma alteração do transportador mediado da dopamina que realiza a captação sináptica da mesma (35). Na DP a  $\alpha$ -sinucleína sofre uma alteração conformacional da sua forma  $\alpha$ -helicoidal para uma estrutura  $\beta$ -sheet-rich. Esta nova conformação sofre, por ela própria, agregação, em combinação com outras formas alteradas da proteína, tendo como resultado a sua inclusão em corpos celulares e axónios conhecidos respetivamente por LB's e LN's (neurites de Lewy). Os neurónios são incapazes de degradar ou eliminar estes agregados, tendo como consequência a sua acumulação que resulta em processos neurodegenerativos (23). Pesquisas mostram também uma potencial envolvência da disfunção mitocondrial e stress oxidativo, como via patológica da DP, contudo, os mecanismos por detrás destes processos permanecem pouco claros. Na DP é observado o aumento da ROS a níveis tóxicos, potencializando o stress oxidativo. As ROS são potenciais causadores de dano molecular nas células, nos lípidos, nas proteínas e no DNA, sendo todos estes fatores identificados em indivíduos com Parkinson. Existem ainda outros biomarcadores do stress oxidativo reportados na DP tais como, a redução da expressão da proteína antioxidante glutatona (GSH) e a diminuição da atividade do complexo mitocondrial 1 no SNC (8)(35).

## 2.2. Etiologia, sinais e sintomas

Os primeiros sintomas da doença são observados quando a concentração de dopamina sofre um decréscimo entre os 70-80%, como resultado da morte dos neurónios dopaminérgicos (57). Os sinais e sintomas da doença são predominantemente défices motores que incluem bradicinesia, tremor, rigidez e instabilidade postural, existindo ainda os não motores: distúrbio do sono, cognitivos e funções de autonomia individual (66)(24).

A maior parte dos casos de DP são esporádicos e causados pela combinação de fatores genéticos e ambientais, no entanto, alguns casos apresentam histórico familiar e a causa da doença envolve apenas fatores genéticos (57). Os fatores ambientais incluem envelhecimento, stress crónico fisiológico, infeção, trauma cerebral e exposição a pesticidas ou herbicidas (34). Outro fator de risco da DP consiste na elevada suscetibilidade para mutações genéticas, favorecendo formas monogénicas da doença, tendo sido identificados genes e variantes únicas com penetrância incompleta (66). Recentemente, novas mutações genéticas foram identificadas, nomeadamente genes autossómicos dominantes: gene  $\alpha$ -sinucleína, SNCA, LRRK2 e genes autossómicos recessivos: PARK2, PARK7, PINK1, ATP13A2 (Tabela 3). Estas mutações mostraram evidências significativas nos mecanismos da morte celular nos neurónios dopaminérgicos da substância negra, tais como: disfunção mitocondrial, stress oxidativo, neuroinflamação, autofagia insuficiente e degradação proteasomal proteica (57).

Ainda que os mecanismos fisiopatológicos da DP sejam pouco consistentes, sabe-se que a acumulação de  $\alpha$ -sinucleína em diferentes partes do cérebro, ocorrendo primeiramente na substância negra, favorecem a degeneração neural e conseqüentemente a perda dos níveis homeostáticos da dopamina. Deste modo, surge a perda do controlo do tónus muscular e dos movimentos. Estudos relacionam a deposição de  $\alpha$ -sinucleína com predisposição genética para a mutação PARK1 (24).

**Tabela 3** – Genes e respectivas proteínas, suas funções e hereditariedade, envolvidas na doença de Parkinson (24)

<b>Gene</b>	<b>Proteína</b>	<b>Função</b>	<b>Hereditariedade</b>
<i>SNCA</i>	$\alpha$ -sinucleína	Regulação de neurotransmissores	Autossômica dominante
<i>PARK2</i>	<i>Parkin</i>	Manutenção da função mitocondrial e degradação de proteínas alvo	Autossômica recessiva
<i>PINK1</i>	<i>PTEN</i>	Resposta ao stress oxidativo e manutenção da função mitocondrial	Autossômica recessiva
<i>PARK7</i>	<i>DJ-1</i>	Sensor redox e antioxidante	Autossômica recessiva
<i>LRRK2</i>	<i>Leucine-rich repeat kinase 2</i>	Por esclarecer	Autossômica dominante

### 2.3. Tratamento

Os tratamentos atuais da DP dirigem-se fundamentalmente ao alívio dos sintomas e ao aumento da qualidade de vida dos indivíduos com a doença. Todavia, estes tratamentos não são capazes de retardar ou prevenir a progressão da doença. Exemplos dos tratamentos utilizados são: levodopa, agonistas do recetor da dopamina e inibidores COMT, todas estas opções terapêuticas têm como objetivo aumentar os níveis de dopamina no cérebro (35).

A levodopa é a *gold-standart* no tratamento sintomático da Parkinson, nenhum outro agonista da dopamina demonstrou eficácia superior ou igual nos sintomas motores. A levodopa é um precursor da dopamina já que esta não apresenta capacidade para atravessar a BHC. No entanto os seus efeitos adversos limitam o seu uso a longo prazo. Ao fim de 5-10 anos de tratamento, a maioria dos indivíduos com Parkinson sofrem complicações tais como discinesia e movimentos anormais involuntários, estas observações poderão ser mais prejudiciais que os próprios sintomas (34). Por este motivo existem ainda opções terapêuticas que combinam a levodopa com inibidores da MAO e inibidores da COMT, com o objetivo de estender a sua ação reduzindo a degradação metabólica causada pela levodopa (35). Outra terapêutica que tem vindo a ser estabelecida é a estimulação cerebral profunda, que consiste na implantação de elétrodos em pequenos núcleos cerebrais, ligados por um cabo subcutâneo a um gerador de impulsos elétricos, também situado por baixo da pele na região infra clavicular. A estimulação permite um benefício motor semelhante ao obtido com a levodopa, mas com o quase desaparecimento das flutuações motoras e das discinesias. Os doentes ficam então com os sintomas controlados, em *on*, durante as 24 horas, desaparecendo a imprevisibilidade dos períodos *off*. Ocorre melhoria do sono, das dores e dos efeitos neuropsiquiátricos induzidos pela medicação. Permite também a melhoria da qualidade de vida (23).

Tem sido considerado que a cirurgia deve ser uma indicação em doentes com complicações motoras severas e grave incapacidade, situação em que está comprovada a sua superioridade em relação ao tratamento com os fármacos existentes. No entanto, um estudo recente mostrou que em fases menos avançadas da doença a cirurgia também é superior aos fármacos orais, pelo que existe tendência a propor este tratamento em fases menos avançadas da doença. Tal como a medicação, a cirurgia não cura nem altera o curso da doença. É conhecido que com o passar dos anos vão surgindo sintomas que não melhoram com a levodopa e não melhoram com a cirurgia. Então, mesmo em doentes operados, surgem ao longo do tempo sintomas como alterações da fala, da marcha, do equilíbrio ou cognitivos, de difícil tratamento (23).

Com o objetivo de fazer a melhor gestão possível da doença, os investigadores focaram-se, primeiramente, nos neurónios dopaminérgicos da substância negra. Contudo, após evidências significativas do papel crucial das células da glia na doença, estas passaram a ser o novo alvo de estudo (57). Por exemplo a glia participa na libertação de fatores neuroinflamatórios, na ativação microglial e na destruição dos neurónios dopaminérgicos, fatores tanto funcionais como nocivos na fisiopatologia da doença, desempenhando assim uma ação controversa (27). Terapias antioxidantes, agentes anti-apoptóticos e fatores tróficos, fazem parte de novas opções terapêuticas apesar de não existirem evidências clínicas suficientes da sua eficácia na DP (35).

## **3. Células da glia**

### **3.1. Astrócitos**

Os astrócitos são as células da glia mais abundantes do SNC, desempenhando funções vitais para os neurónios (5). Uma das principais funções dos astrócitos é a manutenção da homeostasia do espaço extracelular que envolve as células nervosas, criando um meio envolvente adequado para o normal funcionamento das mesmas (19). Os astrócitos estão envolvidos na formação da rede neural e no seu normal funcionamento, atuando diretamente na transmissão sináptica, regulação de iões e neurotransmissores, processos metabólicos de nutrição e suporte, regulação do fluxo sanguíneo e defesa. Contudo os astrócitos desempenham também um papel fulcral nos processos neurodegenerativos (69)(25)(26).

#### **3.1.1. Regulação dos neurotransmissores no meio extracelular**

Os processos que envolvem os astrócitos são altamente dinâmicos apresentando elevada capacidade de mobilidade, retração e extensão causando um grande impacto na rede neural influenciando a difusão de importantes neurotransmissores (2)(38). A libertação de neurotransmissores pelos terminais pré-sinápticos resulta na ativação dos astrócitos através de mecanismos dependentes de  $Ca^{2+}$ , tendo como resultado a libertação ou remoção dos neurotransmissores e regulando simultaneamente os terminais pré- e pós-sinápticos modulando assim a excitabilidade celular (12). Um exemplo do processo descrito anteriormente é a regulação do glutamato, o neurotransmissor excitatório mais potente do SNC, quando os neurónios libertam glutamato os astrócitos são estimulados a libertar o mesmo neurotransmissor, este sinal glutamatérgico garante a comunicação bidirecional. Adicionalmente, de modo a evitar o dano neural devido á excitabilidade excessiva, os astrócitos apresentam ainda a capacidade de remoção do glutamato a nível sináptico (6).

#### **3.1.2. Regulação dos iões no meio extracelular**

O espaço extracelular é delimitado funcionalmente pela polarização das proteínas membranares, tais como os canais dependentes de voltagem e transportadores de neurotransmissores; quando existe uma anomalia dos mesmos o resultado é, na maioria das vezes, patológico devido à restrição na difusão de importantes transmissores e iões. Um dos principais iões envolvidos neste mecanismo membranares é o ião  $K^+$ (12).

Os astrócitos desempenham um papel importante na manutenção da concentração adequada deste íon no meio extracelular, para tal utilizam mecanismos como a expressão de canais, como é o caso do canal Kir que é responsável pela captação do excesso de  $K^+$  libertado durante a transmissão do impulso nervoso a favor do seu gradiente potencial eletroquímico, ou seja, quando os astrócitos detetam níveis elevados de  $K^+$  no meio extracelular que poderão resultar numa redução do gradiente osmótico potencialmente tóxica, resgatam-nos procedendo ao seu armazenamento, evitando assim possíveis danos (58)(6)(43).

### **3.1.3. Suporte energético e metabólico**

Embora o cérebro represente apenas 2% do peso total corporal é responsável pelo consumo de 25% da glicose utilizada pelo organismo. Este consumo totalmente desproporcional quando comparado com o consumo de glicose dos outros órgãos, é fundamentado no custo energético necessário para manter o equilíbrio entre o gradiente dos variados íões, essenciais na manutenção da transmissão do potencial de ação; assim o suporte metabólico é crucial para manter a funcionalidade e integridade das células nervosas (6). Os astrócitos apresentam um posicionamento estratégico entre os vasos sanguíneos e os neurónios de modo a garantirem o suporte energético e metabólico, num processo que envolve o aumento transitório do íon  $Ca^{2+}$ , induzido por neurotransmissores, gerando uma “onda” de  $Ca^{2+}$ . A propagação desta “onda” nos astrócitos leva à libertação de substâncias vasoativas como é o caso dos metabolitos do ácido araquidônico ou ATP nas suas terminações que permitem a captação de glicose existente no sangue (18)(58)(6).

Embora os neurónios consigam importar a glicose diretamente, os astrócitos desempenham uma função adicional neste processo através de um mecanismo denominado transporte neuro-astrocítico de lactato, este mecanismo estimula a glicólise anaeróbica e recaptação da glicose da circulação via GLUT-1, um transportador expresso especificamente pelas células da glia e as células endoteliais dos capilares no cérebro (12). O lactato produzido pelos astrócitos como resultado da glicólise é libertado no espaço extracelular e absorvidos pelos neurónios; uma vez dentro dos neurónios é utilizado como substrato energético suprimindo as suas necessidades metabólicas (6).

### **3.1.4. Regulação da BHE**

Os astrócitos, como descrito anteriormente, encontram-se em contato com os vasos sanguíneos, a sua finalidade é formar uma unidade neurovascular seletiva sendo por isso

responsáveis pela regulação do fluxo sanguíneo local formando uma barreira protetora, deixando atravessar apenas as substâncias e metabolitos essenciais e não-tóxicos (38)(58).

A produção e libertação de mediadores como as PGE, NO e AA, são um mecanismo da responsabilidade dos astrócitos e permitem o aumento ou decréscimo do diâmetro dos vasos sanguíneos do SNC e do fluxo sanguíneo coordenadamente consoante as necessidades (62).

### **3.1.5. Regulação da formação, funcionalidade e plasticidade das sinapses**

A principal unidade computacional do cérebro é a sinapse. O facto dos astrócitos participarem em grande parte da função sináptica, incluindo o seu desenvolvimento, manutenção e modulação da sua atividade, contribuíram para o reforço da ideia de que os astrócitos não são apenas reguladores passivos da homeostasia cerebral, mas sim grandes intervenientes da capacidade cognitiva, de aprendizagem e memória (58). Estas evidências devem-se à participação direta dos astrócitos na transmissão sináptica através da regulação da libertação ativa de moléculas, incluindo glutamato, purinas, ATP, adenosina, GABA e D-serina (5). A libertação destes gliotransmissores ocorre em resposta à atividade sináptica, envolvendo a excitabilidade dos astrócitos em resposta ao aumento do ião  $Ca^{2+}$ , conseqüentemente regulando a excitabilidade neural. Todos os dados referidos anteriormente levaram à criação de um novo conceito na fisiologia sináptica, a sinapse tripartida, onde os astrócitos trocam informação com os elementos neurais do foro sináptico, constituindo assim uma parte integral das sinapses (2)(58)(43)(62).

### **3.1.6. Contribuição nos mecanismos neurodegenerativos**

Os astrócitos, para além de todos os mecanismos homeostáticos referidos, apresentam ainda uma forte contribuição nas reações a lesões e doenças cerebrais tais como Alzheimer, AVC, epilepsia, traumatismos cranianos e lesões na medula espinhal; a este processo dá-se o nome de astrogliose (58). Na presença de neurotoxicidade os astrócitos são ativados, expressando proteínas inflamatórias, iniciando assim uma cascata inflamatória complexa, tendo como resultado final a apoptose neural. Expressam ainda antigénios do complexo MHC II, que contribuem para uma resposta imune, e fatores neurotróficos tais como BDNF (38). Em resposta a lesões severas, como é o caso do traumatismo craniano e lesões na medula espinhal, os astrócitos tornam-se altamente reativos e sofrem abundantes alterações incluindo hipertrofia no citoesqueleto celular, caracterizada pelo aumento da expressão e proliferação das proteínas acídicas fibrilares gliais (GFAP), iniciando também a expressão de moléculas da matriz

extracelular, de que são exemplo proteoglicanos, sulfato de condroitina, lamininas e fibronectina. Estes dois mecanismos juntos formam uma cicatriz composta de uma elevada densidade de células gliais que apresenta resultados positivos e negativos para a reparação do sistema nervoso (29). Por um lado, na presença de inflamação os astrócitos limitam a lesão do tecido promovendo a sua reparação, por outro lado, as moléculas da matriz extracelular são potentes inibidoras da regeneração dos axónios (58).

### **3.2. Microglia**

As células da microglia representam cerca de 0,5 a 16% de todos os elementos gliais. São as células deste conjunto que apresentam as dimensões mais reduzidas, encontrando-se predominantemente no encéfalo e medula espinhal e são as únicas do grupo com origem mesodérmica de linhagem hematopoiética (59). Ainda, no que diz respeito as suas características, estas células apresentam elevada plasticidade, motivo que as leva a adquirirem diferentes estruturas conformacionais que se dividem em diferentes subtipos, nomeadamente M1 e M2. Estes dois subtipos, apesar de ambos resultarem da ativação microglial, apresentam diferentes mecanismos de intervenção, nomeadamente, o fenótipo M1 determina a condição pró-inflamatória através da libertação de citocinas inflamatórias, quimiocinas, expressam NADPH oxidase, substâncias de carácter oxidativo e espécies de nitrogénio, adicionalmente expressam ainda o MHC-II, integrinas (CD11b, CD11c), moléculas co-estimuladoras e receptores fc. O fenótipo M2 é vocacionado para a reparação dos tecidos que permite a libertação de citocinas anti-inflamatórias (IL-10, TGF- $\beta$ ), fatores de crescimento (IGF-1, FGF, CSF1) e fatores neurotróficos de crescimento (NGF, BDNF, neurotrofinas, GDNF) (1) (59).

As células da microglia são as primeiras células da glia a surgir e a intervir no desenvolvimento cerebral, sendo atingida mais tarde a sua completa maturação quando surgem os astrócitos (44). Estas células contribuem para o desenvolvimento cerebral, regulam a morte celular programada, intervêm na maturação e supressão sináptica, sendo também responsáveis pela eliminação das sinapses disfuncionais e por mecanismos de defesa contra lesões ou doença. A microglia e os astrócitos cooperam e intervêm em vários processos tais como a angiogénese, sinaptogénese, crescimento axonal e supressão sináptica (59).

A microglia é responsável pela resposta imune no SNC, sendo as primeiras intervenientes na defesa e abrangendo todo o parênquima cerebral. Em repouso, estas células apresentam inúmeras ramificações, com o propósito de detetar a presença de qualquer agente patogénico, lesões ou doença (58). Após detetada a presença de lesões neurodegenerativas, trauma,

isquemia, infecção ou agentes patogénicos e inflamatórios, a microglia é ativada sofrendo alterações estruturais, diminuindo as suas ramificações e aumentando o seu corpo celular, libertando agentes citotóxicos, como ROS e TNF- $\alpha$ , capazes de induzir a morte celular dos agentes patogénicos. Este processo é estimulado pela presença de determinados neurotransmissores tais como o glutamato e o ácido  $\gamma$ -aminobutírico, realizando posteriormente processos de fagocitose dos detritos celulares, que serão apresentados aos linfócitos com o objetivo de os eliminar; esta intervenção é bastante semelhante à ação dos macrófagos (58)(1). A neuroinflamação induzida pela microglia, representa um mecanismo de defesa com o propósito de eliminar a causa da lesão, conter o dano e iniciar processos de reparação (1).

### **3.3. Oligodendrócitos**

Os Oligodendrócitos e as células de Schwann, são responsáveis pela formação da bainha de mielina que reveste os axónios e permite uma rápida e eficiente propagação do potencial de ação. Apesar de ambas as células possuírem esta função os oligodendrócitos atuam no SNC e as células de Schwann no SNP (61)(70). Uma das principais diferenças entre estas células incide no facto de um único oligodendrócito ser responsável pela mielinização de vários axónios enquanto que cada célula de Schwann é responsável pela mielinização de um único axónio. Outra diferença reflete-se na sua origem e diferenciação, enquanto que os oligodendrócitos derivam da zona subventricular e do tubo neural, as células de Schwann derivam da crista neural (25)(61).

#### **3.3.1. Regulação da mielinização**

A bainha de mielina apresenta propriedades nos axónios que influenciam a sua fisiologia, apresentando como principais características o aumento da velocidade de propagação do potencial de ação, através do aumento da resistência do fluxo de iões através da membrana plasmática e recrutando e agrupando canais de iões ( $Na^+, K^+$ ) nos nódulos de Ranvier, desprovidos de mielina (61). Com o aumento da velocidade de propagação, os axónios adquirem estruturas reduzidas que possibilitam a formação de uma rede neural mais complexa e interconectada (47). A associação desta redução estrutural dos neurónios e a restrição das correntes de transmissão aos nódulos de Ranvier, resultam em significativas poupanças metabólicas, sendo necessário despende menos energia para manter o gradiente iónico (58). Os axónios encontram-se subdivididos em 4 principais domínios: nódulos de Ranvier, paranódulos, justaparanódulos e internódulos (52).

### **3.3.2. Metabolismo**

Os axónios, devido ao seu revestimento de mielina, estão isolados do meio extracelular; assim os oligodendrócitos apresentam como função o fornecimento do seu aporte metabólico, incluindo colesterol, lactato e glicogénio (54). As alterações ao seu metabolismo lipídico conduzem a lesões neurodegenerativas caracterizadas pela desmielinização (61).

### **3.4. Células endimárias**

As células endimárias são células epiteliais de suporte, que delimitam o canal central e as cavidades ventriculares do SNC. Estruturalmente, estas células, formam uma interface entre o líquido cefalorraquidiano e o parênquima da medula espinhal e do cérebro, onde se localiza o fluido intersticial (1)(13). Estas células derivam das células progenitoras da glia radial, perdendo o seu cílio primário e adquirindo cílios secundários com mobilidade, de acordo com a sua localização ao longo dos ventrículos, estas células vão adquirindo cílios consoante o seu desenvolvimento. A sua principal função é a sua participação interventiva na formação da BHE (46). O plexo coroide é caracterizado pela presença de células endimárias especializadas que expressam aquaporinas com a finalidade de recrutar a água que circula no sangue, conduzindo-a para os ventrículos a fim de integrar o líquido cefalorraquidiano (LCR). A direção do fluxo do LCR é mantida e regulada por neurotransmissores com a cooperação destas células ciliadas (13).

## IV. Células da glia nas doenças neurodegenerativas

A conexão entre os neurónios e as células da glia é crucial para o desenvolvimento e homeostasia das funcionalidades e componentes do sistema nervoso. Estas células no cérebro saudável apresentam como principal finalidade a neuroprotecção do mesmo, contribuindo para a sua capacidade reparadora, todavia estas células também participam na deterioração neural associada ao envelhecimento e/ou a patologias, nomeadamente as neurodegenerativas como é o caso da doença de Parkinson, Alzheimer e esclerose múltipla (55).

### 1. Células da glia no Alzheimer

#### 1.1. Astrócitos na DA

O papel dos astrócitos na doença de Alzheimer é controverso, visto que existem evidências que demonstram tanto a sua função neuroprotetora como neurotóxica. No que diz respeito aos seus mecanismos neuroprotetores, os astrócitos são ativados pela presença do péptido amiloide, desencadeando um aumento da concentração do ião  $Ca^{2+}$  no meio intracelular e um aumento da absorção da substância  $\beta$ -amiloide. Os astrócitos são também ativados pelas citocinas e quimiocinas libertadas pela microglia tais como a IL-1, TNF- $\alpha$  e TGF- $\beta$ , quando ativados libertam vários fatores de carácter imune: IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e TGF- $\beta$  e IL-6. Por outro lado, uma regulação disfuncional da homeostasia de  $Ca^{2+}$  e glutamato nos astrócitos reativos são mecanismos patogénicos da DA, considerando que anomalias na sinalização de cálcio e na libertação do transmissor da glia, são originadas pela presença de A $\beta$  (38)(50)(15)(36).

##### 1.1.1. Astroglia e péptido amiloide

O papel dos astrócitos no metabolismo e processamento envolvidos na deposição  $\beta$ -amiloide é um tema controverso, evidências sugerem que os astrócitos reativos na Alzheimer participam na eliminação e degradação de A $\beta$ . Para o efeito, estas células expressam a neprilisina, a enzima responsável pela sua degradação (55). A astroglia contém habilidades que lhes permite degradar e fagocitar depósitos  $\beta$ -amilóides. Porém, com o desenvolvimento da doença, os astrócitos são afetados tornando-se menos funcionais e acabando por se tornarem em produtores de A $\beta$ . A chave desta produção é a BACE1, a endoprotease conhecida por  $\beta$ -secretase. Num cérebro saudável, a expressão de BACE1 é um processo exclusivo dos neurónios, porém, na presença da DA ou mesmo sobre condições crónicas de stress, os astrócitos começam também a expressar esta enzima, proporcionando-lhes assim a capacidade de produzir A $\beta$ , exacerbando

a sua deposição. De um modo sinérgico ocorre ainda um aumento da produção de APP e APO-E, outro biomarcador identificado na Alzheimer (68).

### **1.1.2. Astroglia e a unidade neurovascular**

O dano vascular é um importante fator incluído nas vias patológicas associadas à DA. Através da realização de estudos de imagem em humanos é evidente a redução do fluxo sanguíneo em pacientes com Alzheimer, comprovando assim a intervenção dos defeitos vasculares na doença, nomeadamente em estados precoces da mesma (68).

A unidade neurovascular consiste na integração dos astrócitos com neurónios, endotélio, pericitos e musculatura vascular, formando assim uma unidade funcional independente. A astroglia é por este motivo responsável pela coordenação destes elementos, garantindo a ligação entre a atividade neural e o fluxo sanguíneo através dos mais variados mecanismos incluindo, cascatas de sinalização, que controlam ações vasculares tais como, vasoconstrição e vasodilatação. Além do mais estas células da glia coordenam a formação de *tight junctions*, favorecendo a BHE e desempenham atividades que envolvem o transporte de água e eletrólitos, assim como de glucose, fornecendo-os aos neurónios com o objetivo de estabelecer um eficiente suporte energético aos mesmos, tal como foi descrito anteriormente (55). As placas senis inserem-se também nesta unidade neurovascular prejudicando, na sua presença, a microcirculação e a *clearance* vascular do  $A\beta$ . A regulação da circulação e uma hiperemia funcional desempenhada pelos astrócitos, são fulcrais na atividade da rede neural. Alterações prejudiciais na unidade neurovascular, presentes na DA, contribuem para o dano dos astrócitos e ocorre precocemente na doença, contribuindo assim para o défice cognitivo que a caracteriza (68).

### **1.1.3. Metabolismo**

O stress metabólico é um dos primeiros sintomas a surgir em *AD-like* (indivíduos com elevada predisposição para a doença). Investigações baseadas em estudos de imagem evidenciam uma progressão significativa na diminuição do uso da glucose por parte dos astrócitos nos estados precoces da doença (55). A presença de  $A\beta$  causa uma modulação astrogliar metabólica por afetar o metabolismo da glucose e os seus transportadores, nomeadamente o GLUT1, e elevar a produção de ROS nos astrócitos (17).

Este tema volta a ser controverso pois tanto existem indicadores que demonstram que o péptido  $\beta$ -amiloide diminui o uso da glucose por parte dos astrócitos, como também é

conhecido que a presença de  $A\beta$  aumenta os níveis de glucose em culturas de células astrogliais por aumentar a atividade metabólica da glucose e favorecer a glicogénese (55). Ainda, a análise da atividade de enzimas metabólicas evidencia novamente resultados controversos, com o aumento e decréscimo na sua atividade relacionada com o metabolismo da glucose por influência da DA. Estas discrepâncias traduzem diferentes mudanças no metabolismo que se desenvolvem em diferentes estágios da Alzheimer (68).

#### **1.1.4. Astrodegeneração e a morte neural**

A diminuição da função cognitiva é o primeiro sinal da doença de Alzheimer, aparecendo mesmo antes do desenvolvimento dos marcadores específicos patológicos: placas senis e NFT's (17). Esta análise confirma a falha na conectividade neural responsável pelo declínio da função cerebral (16). O enfraquecimento e morte sináptica são observados precocemente, existindo assim, uma forte correlação entre o estado de demência e a extensão da perda sináptica. Não obstante, existe uma fraca ligação entre a extensão da deposição de  $A\beta$ 's e NFT's com o agravamento do défice cognitivo (65).

Como descrito anteriormente, a astroglia é crucial para sinaptogénese e manutenção sináptica, os seus transportadores regulam o ambiente envolvente e previnem toxicidade local associada ao glutamato e despolarizações inapropriadas devido à acumulação excessiva de  $K^+$  (68). Estas células são ainda responsáveis pela manutenção da transmissão glutamatérgica e suporte metabólico (65).

A atrofia dos astrócitos, que ocorre nos primeiros estágios da doença é, pelos motivos enumerados, um dos principais fatores associados a neurodegeneração, que inclui má formação e morte sináptica, assim como um défice cognitivo (31). A astrogliose na DA é despoletada por diferentes fatores incluindo dano neural/neuroglial e deposição extracelular de  $A\beta$ . Um dos mecanismos associados envolve a conexão dos astrócitos e  $A\beta$ , que promovem sinalizações patológicas de  $Ca^{2+}$ . Outro mecanismo consiste na neuroinflamação desencadeada pela ativação astrogliar, que resulta na libertação de citocinas, fatores pro inflamatórios, NO e ROS. Ambos os mecanismos promovem vias com resultados neurotóxicos (36).

#### **1.1.5. Neuroinflamação**

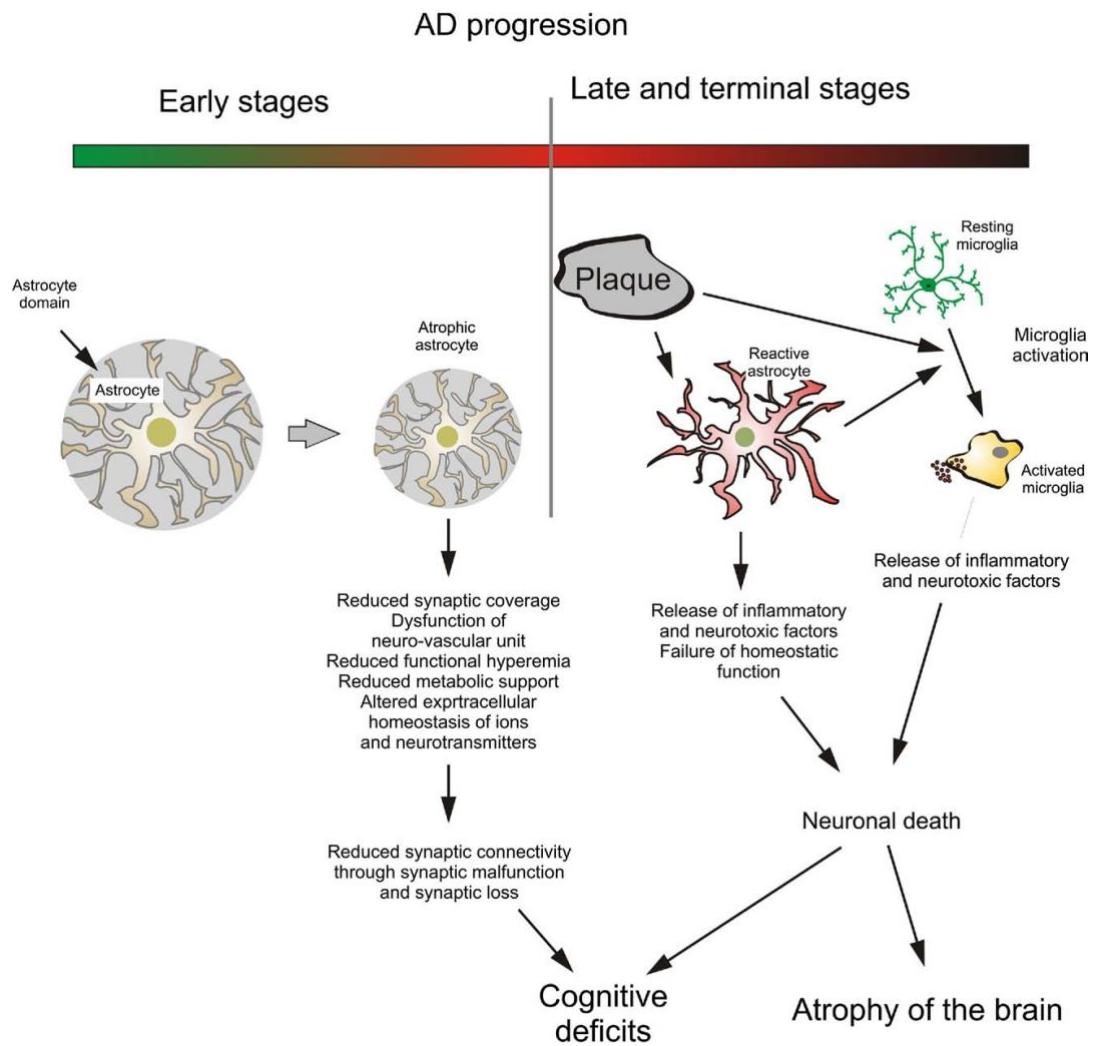
A inflamação, num indivíduo saudável consiste numa resposta fisiológica cujo intuito é a proteção neural, pois regula os seus danos. As ações da inflamação incluem: proteção contra microrganismos, reparação dos tecidos e remoção dos detritos celulares. As principais células

capazes de induzir uma resposta inflamatória na região cerebral são: astrogliia e a microglia. Embora a inflamação seja um processo crucial na proteção do SNC, alterações nas suas vias de intervenção são extremamente nocivas para o cérebro e o seu normal funcionamento. A maioria das condições neurodegenerativas, nas quais se insere a doença de Alzheimer, estão associadas à presença de uma resposta neuroinflamatória disfuncional (65).

O aumento da expressão de GFAP é considerado um marcador comum de neuroinflamação na grande maioria das doenças neurodegenerativas, incluindo DA. A microglia e os astrócitos, de um modo sinérgico, após ativados libertam agentes pro- e anti-inflamatórios. A astrogliia modifica o seu fenótipo consoante as citocinas presentes, podendo se apresentar tanto no seu estado inativo, como no seu estado ativo (29). Por exemplo, o aumento dos níveis de  $\text{INF-}\gamma$ ,  $\text{IL-1}\beta$ ,  $\text{IL-6}$  e  $\text{TNF-}\alpha$  ativam os astrócitos e conseqüentemente ativam a via patológica dependente do  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  que envolve a produção de ROS e NO. Enquanto que o aumento dos níveis de  $\text{IL-4}$  e  $\text{IL-13}$ , ativam uma via alternativa que diminui a produção de ROS e NO. Elevados níveis de  $\text{IL-10}$  e  $\text{TGF}\beta$  desativam os astrócitos diminuindo assim a resposta imune e a sinalização proinflamatória (4).

O estado reativo dos astrócitos depende também da fonte de lesão, neuroinflamação ou isquemia, reforçando assim o papel versátil da astrogliia. Foram identificados dois estados reativos da astrogliia: A1 e A2 (31). A1 intervém no desenvolvimento de fenótipos neurotóxicos, enquanto que A2 desempenha características neurotróficos e neuroprotetivas. A presença de  $\text{IL-1}\alpha$ ,  $\text{TNF}\alpha$  e  $\text{C1q}$  (libertados pela microglia) favorecem o estado reativo A1 predominantemente presente nos tecidos cerebrais de indivíduos com DA (16).

A libertação de quimiocinas e citocinas que ocorre na presença de  $A\beta$  não é a única via de ativação de astrócitos, a ativação dos mesmos ocorre também na presença de citocinas proinflamatórias e como resposta à deposição e produção de  $A\beta$ . Além do mais, estudos demonstram, que a presença de inflamação favorece significativamente a produção de  $A\beta$  (31). Adicionalmente a progressão da neuroinflamação esta intimamente envolvida nas alterações cognitivas na doença de Alzheimer, onde a neuroinflamação é caracterizada pela forte presença de  $\text{IL-1}\beta$ ,  $\text{IL-6}$ ,  $\text{TNF}\alpha$  e  $\text{TGF}\beta$  que contribuem para deposição amiloide, exacerbação da expressão de APP, formação de  $A\beta$ , recrutamento e ação das células microgliais. O mecanismo envolvido baseia-se na estimulação enzimática da  $\beta$ -secretase e  $\gamma$ -secretase, através da via  $\text{MAPK/JNK}$  que cliva APP e inicia a formação de  $A\beta$  (36). O papel dos astrócitos na DA encontra-se esquematizado resumidamente na Figura 1.



**Figura 1** - Contribuição da astroglia nos diferentes estágios da doença de Alzheimer. (68)

## 1.2. Microglia

A proliferação e ativação da microglia no cérebro, concentrada ao redor das placas amiloides, é uma característica proeminente na DA. Evidências mostram que a microglia desempenha um papel protetor no que diz respeito à incidência da doença, contudo as atividades da microglia e as suas alterações em resposta à presença do péptido  $\beta$ -amiloide, estão associadas ao aumento do risco de desenvolver DA (59). A microglia medeia a perda sináptica através dos mecanismos dependentes do complemento, estas podem também exacerbar a via patológica associada à proteína tau e secretar fatores inflamatórios causando assim dano neural por via direta ou pela ativação de astrócitos neurotóxicos (21). O perfil associado à expressão genética indica múltiplos estágios da ativação microglial no processo neurodegenerativo explicando assim o

contraste existente nas funcionalidades da glia no desenvolvimento e progressão patológico da Alzheimer (21)(56).

### **1.2.1. Mecanismos fagocitários**

No que diz respeito à sua intervenção neuroprotetora, aquando na presença de dano ou doença cerebral a microglia é ativada e conseqüentemente exerce a sua atividade fagocitária, considerando que os danos neurais e sinápticos são característicos da demência, especialmente na DA, o papel interventivo destas células na remodelação da função sináptica permite a eliminação das placas  $A\beta$  (21). Estas células interagem com  $A\beta$ , mas também com a APP, através de recetores de reconhecimento de padrões (PRR) específicos incluindo CD14, CD36 e TLR's que são altamente expressos na sua superfície. Esta interação é requerida para ativação fenóptica da microglia e indução da fagocitose e resulta na eliminação de  $A\beta$  (59). Embora não existam evidências suficientemente fortes que impliquem a envolvimento da microglia na formação de  $A\beta$ , os vários recetores da microglia são responsáveis tanto pela fagocitose das formas fibrilares de  $A\beta$ , como também pela pinocitose das suas formas solúveis (31)(56).

### **1.2.2. Recetores toll-like e citocinas**

Alguns recetores, tais como os TLR (TLR-2 e TLR-4), ativam a microglia promovendo a absorção dos agregados  $A\beta$ , outra participação da microglia na neuroprotecção envolve a libertação de níveis moderados de quimiocinas, as quais participam na comunicação entre a microglia e os neurónios. A resposta inflamatória desencadeada pela presença de péptidos  $A\beta$ , de carácter neurotóxico, envolve a IL-6, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , os quais auxiliam no seu papel neuroprotetor, contudo na presença da DA, a microglia também liberta IL-4, IL-10, IL-3 e modifica as funcionalidades do TGF- $\beta$ 1 (31).

Num estado mais avançado da doença, estudos comprovam que a neuroinflamação é gerada pelos agregados de  $A\beta$ , pelos detritos dos neurónios mortos e por uma alteração crónica no meio envolvente, o que provoca alterações também nas funcionalidades da microglia perdendo esta a capacidade de reconhecer e degradar  $A\beta$  (15). Adicionalmente, estas sofrem uma continua ativação causada pelas placas senis, provocando uma progressiva libertação de citocinas e dano crónico neural no meio envolvente, este facto associado a inflamação e respostas imunes resulta numa libertação abrupta de citocinas por parte destas células, capazes de induzir toxicidade (59).

### **1.2.3. Neurotransmissor glutamato e sinalização do $Ca^{2+}$**

Outra ação da microglia como fator neurotóxico consiste na libertação do neurotransmissor excitatório glutamato, na fenda sináptica, aumentando assim os níveis intracelulares de  $Ca^{2+}$  o que ativa os neurónios e as células da glia, desencadeando uma maior libertação deste neurotransmissor (50). A morte neural é causada predominantemente pelo excesso de glutamato e este processo pode ser bloqueado pela remoção de  $Ca^{2+}$  ou pela antagonização do recetor NMDA (16).

### **1.2.4. TREM-2**

Estudos genéticos recentes identificaram variantes genéticas raras que codificam o recetor desencadeante expresso nas células mielóides-2 (TREM2) como fator de risco genético significativo na DA de início tardio.

O TREM2 é expresso especificamente na microglia cerebral e modula as funções microgliais em resposta às principais patologias da DA, como placas de  $A\beta$  e NFTs. Uma compreensão abrangente da função TREM2 na DA oferece uma oportunidade única de explorar o potencial desse recetor microglial como um alvo alternativo na terapia da DA.

### **1.2.5. Sistema do complemento**

Existem diversos mecanismos diretamente associados à perda neural tais como a fagocitose induzida pela  $A\beta$  e a excessiva supressão sináptica que ocorre de um modo sinérgico com as vias patológicas dependentes do complemento. As células da microglia não são as únicas células a expressar recetores do complemento, mas são provavelmente a maior fonte de C1q (proteína iniciadora da clássica cascata do complemento) (59). Fisiologicamente a C1q ativa o componente C3 do complemento que permite às sinapses serem reconhecidas e eliminadas pelas células microgliais através da estimulação do recetor do complemento das mesmas. Os fatores C5, C6, C7, C8 e C9 criam sinergicamente o complexo de ataque à membrana responsável pela lise celular. Por outro lado, o C3 pode favorecer a *clearance* de  $A\beta$ , e o défice desse fator está relacionado com uma deposição acelerada das placas, assim como com a perda de neurónios específicos. Existem ainda relatórios que mostram o aumento dos níveis de C9, o componente final da formação do complexo de ataque à membrana, associados à DA e evidências de um défice da proteína defensora do complemento CD59, cuja função é inibir a lise celular (21).

### 1.2.6. Influência dos fenótipos M1 e M2

Na Alzheimer existe ainda um desequilíbrio relativamente aos fenótipos das células da microglia após a sua ativação, sendo mais abundante a presença do fenótipo M1 relativamente ao M2 (Fig. 2). Este desequilíbrio contribui para a progressão da doença, visto que o fenótipo M1 é responsável pela libertação das citocinas pro-inflamatórias (CD36, CD14, CD11c, MHC-II e iNOS), o qual, por se encontrar em maioria, exerce uma ação

exacerbada conduzindo a dano neural e neurotoxicidade, verificando-se também uma diminuição da angiogénese e reparação dos tecidos neurais por parte o fenótipo M2 (1). Recentemente foi identificado um novo fenótipo: “*Dark microglia*”, em situações de stress crónico, na doença, este fenótipo encontra-se altamente ativado com uma elevada expressão de CD11b e TREM2, “*Dark microglia*”, contribui assim para a deposição amiloide (59).

De um modo geral, a glia proporciona efeitos protetores facilitando a eliminação de  $A\beta$ , contudo desencadeia uma resposta inflamatória exacerbada devido à ativação destas células pelo  $A\beta$  e/ou APP, conduzindo a processos neurodegenerativos. As vias neurotóxicas descritas têm vindo a motivar novos estudos científicos, na tentativa de encontrar alternativas para o tratamento da DA (15).

### 1.3. Oligodendrócitos

A DA é caracterizada por perda neural, como descrito anteriormente, no entanto a desmielinização constitui também um importante processo fisiopatológico na doença. A perda da mielina e das capacidades dos oligodendrócitos, as células responsáveis pela sua produção e manutenção, são fatores chave da neurodegeneração (48). A suscetibilidade dos oligodendrócitos a fatores de stress ou lesão explicam a quebra dos processos homeostáticos destas células e favorecem a deposição de placas senis e conseqüentemente promovem a morte neural (47).

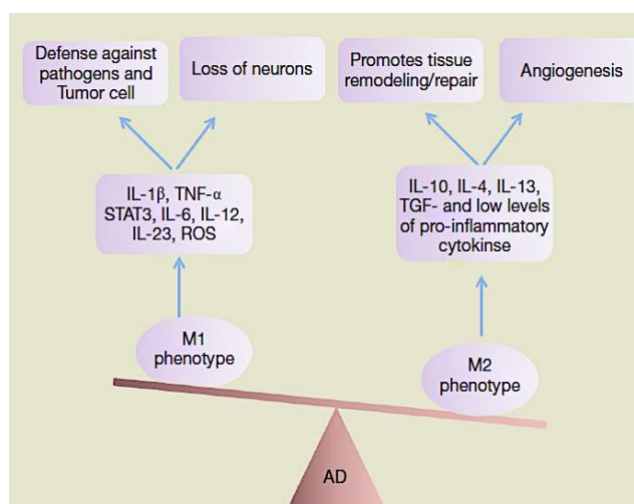


Figura 2 – Desequilíbrio nos fenótipos M1 e M2 da microglia na doença de Alzheimer e suas ações e conseqüências

A principal função dos oligodendrócitos consiste na produção de mielina, mas estes também desempenham funções cruciais de suporte, modulação e regulação neural incluindo a produção de fatores neurotróficos e estabilização da conexão neural. As células precursoras dos oligodendrócitos (OPCs) na presença de um déficit na mielinização, são capazes de proliferar e migrar com o objetivo de efetuarem o processo de mielinização (54).

### **1.3.1. Proteína tau**

Tal como na microglia e nos astrócitos, os oligodendrócitos, na Alzheimer, demonstraram alterações morfológicas que podem ser detetadas em estados muito precoces da doença, antes mesmo das placas amilóides e dos NFT's (16). No entanto o déficit da funcionalidade dos oligodendrócitos é fortemente induzida pela agregação da proteína tau. Considerando que estas células da glia se conectam e interagem com os microtúbulos, é de esperar que precisem fortemente da manutenção da funcionalidade da proteína tau, mais do que as outras células gliais (31). Como resultado, as lesões associadas à proteína tau afetam severamente o processo de mielinização e de transporte axonal (48).

### **1.3.2. Stress oxidativo e $A\beta$**

Estudos mostram que o stress oxidativo afeta negativamente a mielinização exercida pelos oligodendrócitos devido às exigências metabólicas, elevação férrica e conteúdo lipídico, podendo este ser o fator envolvido na perda funcional dos oligodendrócitos (16). A deposição de  $A\beta$  é outro interveniente na toxicidade destas células da glia, por causar dano no seu ADN mitocondrial, ativação AP-1 e NF- $\kappa$ B e ainda indiretamente por induzir ROS (31). Todavia, a deposição de  $A\beta$  é pouco frequente na substância branca do cérebro, onde se inserem os oligodendrócitos, apesar de estar presente nas suas formas solúveis. Na intenção de aprofundar estes fatos, foram realizados ensaios clínicos nos quais o objetivo foi a remoção das placas amilóides em indivíduos com DA, onde não se verificou melhoria sintomática, nem redução da progressão neurodegenerativa e das funções cognitivas (48).

## **1.4. Células endodimárias**

Nos últimos anos, o plexo coroide tem sido alvo de investigação face às suas ações fisiológicas e patológicas no SNC (30). As principais funções do plexo são produzir LCR e manter as condições do meio extracelular dentro dos seus padrões, por intermédio de uma regulação estrita dos componentes dos tecidos nervosos e do LCR. O plexo coroide produz ainda vários péptidos com propriedades neuroprotetoras (40). As células endodimárias que

integram o este plexo sofrem alterações conformacionais e estruturais com a idade e devido a fatores externos e/ou doença: perda do espessamento da membrana e fibrose no estroma. Alterações prejudiciais para o SNC, como as enumeradas, têm vindo a ser reportadas em doenças neurodegenerativas, incluindo a Alzheimer (51).

#### **1.4.1. Agregados $A\beta$**

A deposição de  $A\beta$  é o biomarcador mais importante da DA, esta para além de se acumular na parênquima cerebral e nos vasos sanguíneos, foi também identificada a sua presença nas células do plexo coroide (28). Assim, existe uma relação direta entre a deposição de  $A\beta$  no plexo e o desenvolvimento da atrofia funcional e estrutural das células que o constituem.

#### **1.4.2. Atividade Mitocondrial**

O anormal funcionamento mitocondrial presente na DA encontra-se prevalentemente nos neurónios do hipocampo e nas células epiteliais do plexo coroide. O défice da atividade mitocondrial deve-se fundamentalmente ao stress oxidativo (característico da DA), que leva não só a ineficácia na eliminação de  $A\beta$ , como também ao processamento de APP, contribuindo assim para a acumulação amiloide nos tecidos (51).

O aumento do défice de cicloxigenase (COX) das células epiteliais comprova o decréscimo da atividade enzimática mitocondrial mais acentuado em indivíduos com DA, quando comparados com indivíduos sem DA, com as mesmas características (38). Como resultado ocorre uma diminuição no transporte através das células epiteliais, tendo uma forte influência na *clearance* de  $A\beta$ , evidenciando assim o papel da mitocôndria nos mecanismos patológicos da doença. Por outro lado, o  $A\beta$  é capaz de induzir diretamente dano na função mitocondrial; a acumulação dos depósitos de  $A\beta$  no plexo interfere diretamente com a sua atividade (51).

Assim, a disfuncionalidade mitocondrial resulta de uma diminuição das suas proteínas e da sua atividade (28). Por exemplo, estudos identificaram um decréscimo da atividade do citocromo c oxidase no plexo coroide dos indivíduos com Alzheimer e da atividade da cadeia respiratória, mais especificamente do complexo I e IV (40).

#### **1.4.3. Stress oxidativo e morte celular**

O dano causado pelas espécies oxidativas às proteínas é uma hipótese sugerida recentemente na patogénese da Alzheimer. Foram identificadas proteínas lesadas no hipocampo e lóbulo parietal inferior, em casos de rotura cognitiva média. No caso do plexo coroide, o stress

oxidativo e o dano proteico a ele associado ocorre em estágios mais tardios da DA, comparativamente às outras regiões do cérebro (30). A tropomiosina e a apolipoproteína A-II são exemplos de proteínas danificadas pelas substâncias oxidativas do plexo. A presença deste fenómeno oxidativo resulta em falha nas interações proteicas, no *folding* proteico e na atividade da proteína quinase, no anormal funcionamento do endotélio, musculatura vascular e num ineficiente metabolismo do colesterol HDL. Todas estas consequências favorecem a deterioração das funcionalidades do plexo coroide (51).

Estudos recentes identificaram o aumento de NO produzido pelo plexo coroide associado aos depósitos de  $A\beta$ , estando este mecanismo implícito na patogénese da doença e na disfunção mitocondrial. A interação entre o NO e o citocromo c oxidase controla a produção mitocondrial de peróxido de hidrogénio, interveniente na sinalização redox celular (40). Em suma, os resultados descritos suportam a hipótese de que o  $A\beta$  interfere com a fosforilação oxidativa, que resulta em stress oxidativo, e que as ROS são secundárias à disfunção mitocondrial. Esta análise sugere que a presença acentuada de ROS é responsável por processos de apoptose celular, tendo como fim a morte celular (30).

#### **1.4.4. Expressão, síntese e secreção de proteínas**

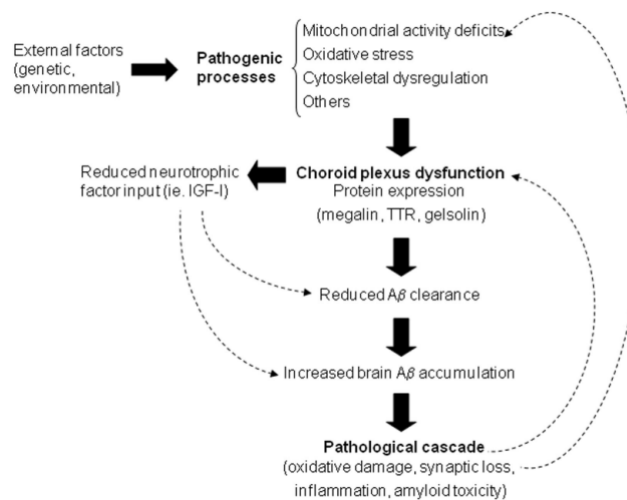
A estrutura e posicionamento das células endimárias permite-lhes efetuar, eficientemente, a distribuição de moléculas através do LCR e do parênquima cerebral. Este plexo é responsável por uma enúmerada quantidade de recetores e transportadores, nele são produzidos compostos biologicamente ativos: neuropéptidos, fatores de crescimento e citocinas (30). Estas estruturas permitem um controlo do fluido extracelular do SNC, a resposta a alterações e a manutenção dos níveis basais (51).

Atendendo às disfuncionalidades das células do plexo coroide na Alzheimer (Fig. 3) a expressão de determinadas proteínas, encontra-se diminuída: fator de crescimento vascular endotelial, apolipoproteína J, transtiretina, gelsolina, entre outras (30).

A reabsorção capilar, o catabolismo enzimático e o transporte do LCR intervêm significativamente na *clearance* de  $A\beta$ . Com a idade o epitélio do CP e as células endimárias tornam-se atroficas devido a mecanismos imunológicos, alterações que se tornam particularmente severas para indivíduos com Alzheimer (28). Quando a atrofia destas células prejudica a eliminação de  $A\beta$  é favorecida a sua deposição e conseqüentemente a doença progride. Adicionalmente, as células endimárias, na presença da doença, expressam a

aquaporina 4 e megalina, existindo uma correlação direta entre a sua expressão e o desenvolvimento progressivo das placas senis (30).

A barreira endotelial é rica em RAGE, o receptor responsável pelo influxo de  $A\beta$  glicado do sangue para o cérebro, assim um aumento da expressão de RAGE contribui para a deposição de  $A\beta$ , desde os estados mais precoces da doença até aos mais avançados. Outra descoberta importante refere-se ao bloqueio do receptor *insuline-like growth factor I* que resulta em amiloidose, distúrbios cognitivos, hiperfosforilação da proteína tau, gliose e perda sináptica. (38)



**Figura 3:** Mecanismos e vias patológicas do plexo coroide na DA (51)

## **2. Células da glia na Parkinson**

### **2.1. Astrócitos na DP**

Os astrócitos são importantes mediadores na homeostasia da rede neural; estas células podem participar como protetoras assim como desestabilizadoras. Assim, tal como na DA, a hiperreatividade dos astrócitos contribui para os processos neurodegenerativos da DP, mas também para a inibição do stress oxidativo, prevenção do dano mitocondrial e produção de fatores neurotróficos. Mais especificamente, na doença, a astrogliose exerce um efeito de proteção através do aumento da expressão dos níveis de GFAP e glutathione peroxidase. A ativação do NF- $\kappa$ B, desencadeada pelos astrócitos na substância negra, proporciona a perda neural de dopamina (27).

#### **2.1.1. Glutathione**

O cérebro apresenta uma suscetibilidade elevada face ao stress oxidativo, devido ao seu elevado metabolismo. Embora a mitocôndria favoreça um metabolismo aeróbio, 1-2% do oxigénio consumido é convertido em espécies oxidativas de oxigénio. Esta ineficiência na cadeia respiratória em reduzir, de uma forma completa, o oxigénio em água, acoplado ao elevado consumo de oxigénio, contribui para a elevada produção de ROS (27). Perante um distúrbio patológico poderá haver um aumento dramaticamente exacerbado, como resultado do distúrbio eletrónico da cadeia transportadora de eletrões, que apresenta como consequência a redução de oxigénio em superóxido. Os fatos descritos consistem numa das vias patológicas envolvidas nas doenças neurodegenerativas onde se inclui a DP (57).

O cérebro possui alguns mecanismos de defesa contra as espécies oxidativas, nomeadamente enzimas antioxidantes tais como a superóxido dismutase, glutathione peroxidase, catalase e o GSH. A glutathione é sintetizada no meio intracelular pela sintetase GSH, sendo a sua concentração maior nos astrócitos do que nos neurónios, provavelmente como resultado da maior atividade da  $\gamma$ -glutamilsisteína nos primeiros (8). Devido à sua proximidade, os astrócitos conseguem partilhar a GSH com os neurónios libertando este antioxidante, através do MRP1, para o meio extracelular (57). Devido à partilha que existe entre os neurónios e a astrogliose, a GSH é clivada pela  $\gamma$ -glutamiltranspeptidase na membrana plasmática dos astrócitos, dando origem à síntese de precursores. Esta função é exclusiva dos astrócitos, pois

nem a microglia nem os oligodendrócitos libertam GSH pelos baixos níveis de MRP1 existentes nestas células (27). Como prova da função neuroprotetora da GSH, a redução dos seus níveis está intimamente relacionada com inúmeros processos neurodegenerativos. Na DP a redução significativa (aproximadamente 40%) da GSH tem vindo a ser identificada, contudo a redução desta enzima é secundária à perda neural e ao tratamento farmacológico (57)(8).

Na tentativa de gerir a doença, foi administrado GSH em ensaios clínicos randomizados, mas estes não demonstraram qualquer benefício clínico, provavelmente devido à baixa permeabilidade da BHE à GSH (57).

### **2.1.2. Fatores de crescimento**

Os astrócitos são capazes de produzir uma variada quantidade de fatores tróficos que apresentam uma função de suporte neural: bFGF, GDNF e MANF. Estes fatores, para além da sua função de suporte, desempenham ainda um papel protetor na DP. O GDNF é o fator mais estudado e pensa-se que seja este a conferir maior proteção dos neurónios dopaminérgicos (57). Alguns destes fatores foram testados em ensaios clínicos da doença e o BDNF e TNF foram identificados como neuroprotetores na presença de excitotoxicidade, através da ativação de NF- $\kappa$ B. Esta ativação promove a expressão de enzimas antioxidantes e de proteínas anti-apoptóticas (Bcl), e IAPs (64). O bFGF protege os neurónios do hipocampo e região cortical contra a toxicidade do glutamato, através da regulação da expressão do recetor NMDA e de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase e glutathione redutase. Adicionalmente, a sinalização de IGF que se dá pela redução da via PI3K/Akt protege a rede neural contra a excitotoxicidade induzida por LPS. Este fator, pela via de ativação IGF-I, suprime a agregação de  $\alpha$ -sinucleína e conseqüente toxicidade, sugerindo assim uma possível opção terapêutica na DP. Similarmente a este fator o VEGF afeta a sobrevivência e proliferação das células endoteliais, neurónios e astrócitos (64).

### **2.1.3. Eliminação de $\alpha$ -sinucleína**

A  $\alpha$ -sinucleína é uma proteína predominantemente presente nas terminações pré-sinápticas, onde exerce a sua função de modulação sináptica (53). Esta proteína encontra-se “*unfolded*” em solução na sua forma nativa, contudo é propensa a formar agregados em condições patológicas. Estes agregados de  $\alpha$ -sinucleína são um dos maiores componentes intracelulares das inclusões características da DP, conhecidos como corpos de *Lewy*. Esta proteína foi também

detetada no meio intracelular dos astrócitos. A astrogliia apresenta a capacidade de degradar a  $\alpha$ -sinucleína através da via lisossomal e deste modo conferem neuroproteção aos neurónios dopaminérgicos através da eliminação do excesso desta proteína de caráter tóxico (35). Mais estudos e investigações são necessários para uma melhor compreensão destes mecanismos que apresentam forte potencial para fins terapêuticos na doença (57).

#### **2.1.4. Citocinas pró inflamatórias**

Os agregados da proteína  $\alpha$ -sinucleína, presentes no meio intracelular dos astrócitos, favorecem a disfuncionalidade dos mesmos. A astrogliia é ativada pela presença destes agregados e, por esta razão, liberta citocinas e quimiocinas proinflamatórias e mediadores neuroinflamatórios tais como, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  (36).

Estes agregados também intervêm negativamente nos transportadores de glutamato, mediados pelos astrócitos, assim como na sua habilidade para regular a BHE. Além disso, a acumulação desta proteína nos astrócitos leva também a uma ativação direta da microglia em várias regiões do cérebro, predominantemente onde existe uma perda significativa dos neurónios motores dopaminérgicos, beneficiando assim a neurodegeneração (53).

Em suma, numa fase precoce onde a acumulação da  $\alpha$ -sinucleína não ultrapassa a capacidade de eliminação dos astrócitos, estas células da glia apresentam uma ação neuroprotetora, contudo quando a sua acumulação excede a sua capacidade de degradação, os astrócitos, após exacerbada ativação, libertam substâncias tóxicas que favorecem a progressão da neurodegeneração (57).

#### **2.1.5. Moléculas mediadas pelo metabolismo MAO-B**

A primeira e mais direta evidência que comprova o envolvimento dos astrócitos na perda dopaminérgica, é a descoberta da ação tóxica da 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP). O mecanismo tóxico desta prototoxina lipofílica que atravessa facilmente a BHE tem vindo a ser alvo de estudo (42). Nos astrócitos, a MPTP é metabolizada pela MAO-B e convertida num catião tóxico ativo, o MPP<sup>+</sup>. Este catião apresenta uma elevada afinidade para o DAT e é capturado pelos neurónios dopaminérgicos e seus terminais, resultando em neurotoxicidade pela via de inibição do complexo I da cadeia transportadora de eletrões da mitocôndria (57).

## 2.2. Microglia na DP

A neuroinflamação é um dos grandes marcadores da DP, sendo a microglia, em sinergia com a astroglia, as células com maior interveniência neste processo. A microglia apresenta efeitos tanto neurotóxicos, como neuroprotetores dependente do seu estado de ativação (33).

No que diz respeito à sua ação neuroprotetora estas células desempenham funções como respostas anti-inflamatórias, modificação de histona, regulação do micro RNA e modelação de recetores nucleares; todos estes mecanismos trabalham em conjunto de modo a suprimir a produção de componentes neurotóxicos (49). Porém, durante a progressão da DP, a microglia deixa de conseguir exercer a sua ação protetora e, em contraste, passa a favorecer vias neurotóxicas (63)(37).

### 2.2.1. Ativação microglial e proteínas patogénicas

A ativação microglial é um processo predominante na DP. Como descrito anteriormente, a ativação destas células da glia pode desencadear mecanismos protetores ou tóxicos, agravando o estado clínico. Uma das vias de ativação da microglia é através de determinadas proteínas tais como:  $\alpha$ -sinucleína, LRRK2, Parkin e DJ-1. Os mecanismos de ativação encontram-se descritos detalhadamente na tabela seguinte (33).

**Tabela 4:** Descrição detalhada e caracterização da ativação microglial das proteínas envolvidas na DP (33)

Proteína	Ativação microglial
<i><math>\alpha</math>-sinucleína</i>	A microglia pode ser ativada direta ou indiretamente por uma variada quantidade de proteínas <i>misfolded</i> . Por exemplo, a forma mutante da $\alpha$ -sinucleína, a proteína patológica mais presente na DP, encontra-se geralmente na sua forma agregada, nitrada ou oxidada e é libertada no espaço extracelular pelos neurónios dopaminérgicos disfuncionais. Os agregados desta proteína são quimioatratadores e favorecem a migração microglial através de $H_2O_2$ -dependente, fosforilação da proteína tirosina, quinase Lyne que consequentemente induzem a ativação microglial através dos TLRs. Tanto a exacerbada expressão de $\alpha$ -sinucleína como a falta desta, podem alterar a sua resposta imune e capacidade fagocítica, características fortemente presentes na DP.
<i>LRRK2</i>	A LRRK2 é uma proteína autossómica dominante, a sua forma mutada regula negativamente a motilidade da microglia que prejudica a sua resposta face ao dano cerebral. LRRK2 participa também na modulação da morfologia da microglia assim como na sua resposta proinflamatória. A inibição da atividade da LRRK2 altera o lipopolissacarídeo TLR4, atenuando a libertação de citocinas, tais como: Oxido nítrico sintetase, $TNF\alpha$ , $IL-1\beta$ e $IL-6$ . A fosforilação da MAPK p38 induzida pela LPS e a

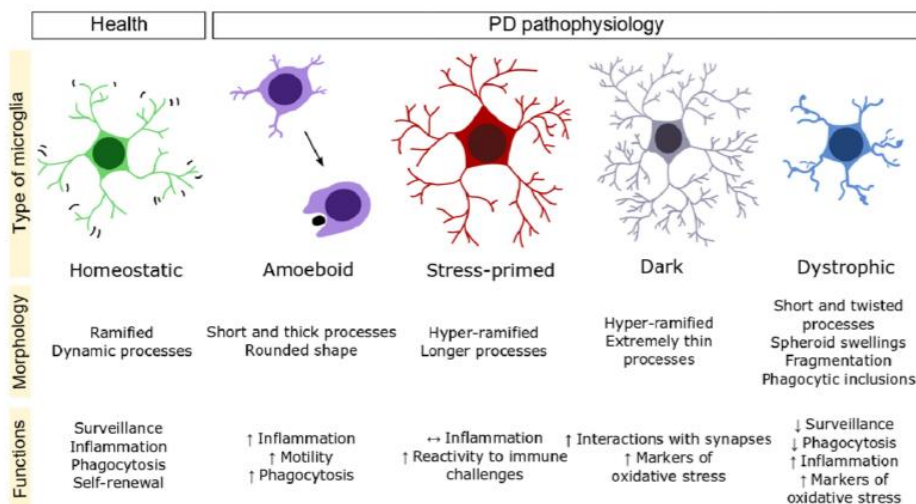
atividade do NF- $\kappa$ B, sofrem um decréscimo nas células de LRRK2 demonstrando assim que LRRK2 é um componente crucial na mediação da neuroinflamação na DP.

*Parkin*

Embora a maioria dos estudos se tenha focado na intervenção de Parkin nos neurónios, os seus níveis são também regulados por sinalização inflamatória na microglia. Uma disfuncionalidade nesta proteína aumenta a vulnerabilidade dos neurónios dopaminérgicos à neurodegeneração, com o aumento de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e iNOS. Estudos mostram que com o envelhecimento a microglia produz menos GSH e encontra-se mais sensibilizada para ROS

*DJ-1*

Mutações no gene que codificam a proteína DJ-1, um sensor do stress oxidativo localizado na mitocôndria, está relacionado com o desenvolvimento da DP a diminuição de DJ-1 na microglia aumenta a sensibilidade das células à dopamina e favorece a secreção de citocinas pro-inflamatórias: IL-1 $\beta$  e IL-6. Um défice desta proteína aumenta a atividade da monoamina oxidase tendo como resultado o aumento dos níveis no meio intracelular de ROS e NO, que resultam consequentemente em neurotoxicidade dopaminérgica.



**Figura 4** – Diferentes fenótipos da microglia envolvidos na DP. Descrição das diferentes morfologias e das respetivas funções (34)

### 2.2.2. Neuroproteção mediada pela microglia na DP

Atendendo à vulnerabilidade e pouca capacidade de regeneração dos neurónios dopaminérgicos a presença de processos de caráter inflamatório crónico podem favorecer a neurodegeneração, mas felizmente existem mecanismos desencadeados pela microglia que podem atenuar a neurotoxicidade. Exemplos destes mecanismos associados à DP envolvem: anti-inflamação, regulação de recetores nucleares, modificação da histona e regulação microRNA (63). Os mecanismos referidos e mencionados anteriormente inibem as citocinas pro-inflamatórias, as ROS, a produção de NO e suprimem a atividade NF- $\kappa$ B. Alguns destes mecanismos irão ser descritos mais detalhadamente na tabela seguinte (ver tabela 5) (34).

**Tabela 5:** Descrição detalhada de alguns mecanismos de neuroprotecção da microglia na doença de Parkinson. (33) (63) (27)

<b>Processo</b>	<b>Mecanismo</b>
Anti-inflamação	As citocinas inflamatórias envolvidas na redução da neuroinflamação são a IL-4, IL-13, IL-10 e TGF- $\beta$ . A IL-4 e a IL-13 são reconhecidas pelos seus recetores e suprimem a produção de citocinas pro-inflamatórias tais como a IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$ . Adicionalmente, reduzem a produção de superóxido e a libertação de NO. A IL-4 secretada pelos neurónios também apresenta a capacidade de aumentar a expressão do recetor desta interleucina que, posteriormente, irá também aumentar a expressão de fatores tróficos pela microglia. A IL-10 atenua a ativação microglial e inibe a produção de TNF- $\alpha$ e NO conferindo assim proteção aos neurónios dopaminérgicos, evitando morte neural. O TGF- $\beta$ apresenta diversas funções nas quais se inserem a indução da angiogénese, posição de matriz extracelular e supressão da resposta microglial, contrariando assim a resposta exacerbada destas células face ao dano e lesão cerebral. As citocinas pro-inflamatórias são também desencadeadoras da ativação alternativa da microglia, promovendo assim a reparação tecidual e indução da secreção de elevados níveis de IL-4, IL-10 e IGF-1, auxiliando na sobrevivência neural.
Modificação da histona	A ativação alternativa da microglia promove a reparação tecidual e a neuroprotecção, alterações epigenéticas como é o exemplo da metilação do DNA e alteração estrutural da histona, regulam a transcrição dos genes. Nos estudos efetuados foi reportado que a histona H3K27me3 desmetilase JMJD3 é essencial para a ativação da via alternativa da microglia. A falha ou diminuição de JMJD3 diminui a expressão de Arg1 e de CD216 na IL-4, mas aumenta a produção de citocinas pro-inflamatórias e NO. Arg1, um marcador clássico da via alternativa da microglia é diretamente regulado pelo JMJD3 é capaz de diminuir a presença de iNOS produzindo assim um efeito anti-inflamatório

### **2.3. Oligodendrócitos**

Apesar dos poucos estudos e evidências do papel participativo destas células na doença, a acumulação de  $\alpha$ -sinucleína foi também identificada nos oligodendrócitos (23). Os oligodendrócitos ao contrário da astroglia não são capazes de expressar  $\alpha$ -sinucleína, contudo estudos mostraram a sua habilidade para internalizar a proteína (3). A transferência da  $\alpha$ -sinucleína entre os neurónios e oligodendrócitos desempenha um importante papel na patogénese da DP. (35) Outro factor que fundamenta o papel destas células da glia na Parkinson é a expressão de LRRK2, uma das principais proteínas envolvidas na doença (23).

## V. Discussão, conclusão e perspectivas futuras

O papel das células da glia nas doenças neurodegenerativas, com base nas evidências e dados descritos, é extremamente controverso. Foram identificados processos e mecanismos destas células tanto neuroprotetores como neurotóxicos nas doenças do foro neurológico, onde se inserem a DA e a DP. Na DA e na DP, todas as células da glia desempenham uma ação participativa, ainda que a astrogliia e microglia apresentem maior destaque, dadas as suas funcionalidades.

Na Alzheimer, a microglia por ser considerada a principal defesa do SNC, na presença da substância amiloide e NFT's é ativada. Numa fase inicial a sua ativação confere proteção, por desencadear uma séria de atividades cujo principal objetivo é eliminar as substâncias acima referidas. Porém com a progressão e desenvolvimento da doença, as vias que até então serviam de auxílio, passam contrariamente a desencadear vias neurotóxicas, devido à acumulação de substâncias libertadas pelas mesmas.

No que diz respeito aos astrócitos na DA, estes por serem o principal suporte energético e metabólico, por mediarem uma série de processos neurais e sinápticos e por também participarem na defesa do SNC em sinergia com a microglia, são células com um elevado interesse clínico no estudo e compreensão da doença. Similarmente à microglia, numa fase inicial da lesão e disfuncionalidade nos processos neurais, a astrogliia atenua as desordens causadas pela própria doença, contudo, com a sua progressão, as células ao tentar exercer as suas funções, acabam elas próprias danificadas e em vez de exercerem a sua atividade protetora, causam uma exacerbação da doença, passando a exercer ações de carácter tóxico. A microglia e a astrogliia concomitantemente contribuem para a neuroinflamação, tão característica da DA, devido ao desequilíbrio que passa a existir entre a quantidade presente de agentes pró- e anti-inflamatórios.

O CP, rico estruturalmente em células endimárias, é a barreira responsável pela formação e regulação da constituição do LCR e é o filtro natural das substâncias que podem entrar e sair do SNC por esta via. Na DA estas células numa fase inicial ajudam na eliminação da substância  $A\beta$  e por esta razão impedem a sua acentuada acumulação na arquitetura cerebral, todavia com o avanço da doença para estágios mais avançados, estas células associadas ao envelhecimento sofrem atrofia e, para além de não conseguirem eliminar a substância na proporção que deviam, deixam de conseguir seleccionar eficientemente as substâncias que devem atravessar a barreira, deixando passar componentes tóxicos que favorecem ainda mais a evolução da doença.

A microglia é responsável por uma série de fatores neuroprotetores na DP, tais como a liberação de substâncias anti-inflamatórias, atividade fagocítica e imunidade. Os neurónios e todos os componentes do SNC beneficiam com a sua presença, devido à capacidade de eliminar células lesadas ou agentes patogénicos. Contudo, a sua hiper-reatividade apresenta efeitos nocivos devido à forte e descontrolada liberação de fatores neurotóxicos (IL-1 $\beta$ , IL-6, NO, ROS e TNF- $\alpha$ ) Embora a microglia interfira em muitas das vias fisiopatológicas da DP, a via em que a sua ação apresenta efeitos mais significativos é a neuroinflamação, um dos maiores marcadores da doença, e um dos maiores fatores envolvidos na sua progressão.

Na DP os astrócitos são capazes de capturar a  $\alpha$ -sinucleína que subseqüentemente se irá acumular no meio intracelular destas células. Em resposta à sua acumulação os astrócitos produzem citocinas e quimiocinas que irão posteriormente ativar a microglia; assume-se que o recrutamento microglial é a ligação entre os astrócitos e a progressão da DP. Assim, a astroglia confere um maior potencial de neuroprotecção do que de neurodegeneração, ainda que esta evidência dependa do estágio da doença.

Os oligodendrócitos são as células responsáveis pela mielinização, assim evidentemente quando estas células se encontram afetadas, tanto pelo fator envelhecimento como pela presença de componentes tóxicos, deixam de conseguir exercer a sua função causando lesão e morte neural, contribuindo assim para os processos neurodegenerativos tanto presentes na DA como na DP.

Como descrito anteriormente, todas estas reações e funcionalidades da glia ocorrem antes mesmo do aparecimento dos primeiros sintomas na DP e DA. Por este motivo, estas células podem favorecer um diagnóstico em estágios mais precoces, porém são necessários métodos mais específicos, menos dispendiosos e um maior desenvolvimento dos estudos acerca do papel destas células nas respetivas doenças.

Fica ainda por esclarecer se as atrofia das células da glia originam e favorecem a progressão destas doenças, ou se as vias fisiopatológicas da DP, DA e de outras doenças neurodegenerativas é que originam as suas disfuncionalidades.

O tratamento da DA e da DP foca-se predominantemente na sintomatologia da doença, no entanto, quer numa doença quer na outra não existem opções terapêuticas que impeçam ou travem a progressão da doença. Estudos futuros são necessários e de extrema importância, quer no desenvolvimento de novas terapêuticas, quer no aprofundamento do conhecimento do papel da glia nas DN e como potenciais alvos terapêuticos.

## VI. Referencias bibliográficas

1. Apostolova LG. Alzheimer Disease. 2016;419–34.
2. Araque A, Navarrete M. Glial cells in neuronal network function. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2010;365(1551):2375–81.
3. Barbariga M, Curnis F, Andolfo A, Zanardi A, Lazzaro M, Conti A, et al. Ceruloplasmin functional changes in Parkinson ' s disease-cerebrospinal fluid. *Mol Neurodegener* [Internet]. 2015;1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13024-015-0055-2>
4. Barcia C. Glial-Mediated Inflammation Underlying Parkinsonism. 2013;2013.
5. Becerra-calixto A, Cardona-gómez GP. The Role of Astrocytes in Neuroprotection after Brain Stroke : Potential in Cell Therapy. 2017;10(April):1–12.
6. Bélanger M, Magistretti PJ. 10.1016/J.Nurt.2010.07.006. *Dialogues Clin Neurosci* [Internet]. 2009;11(3):281–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19877496><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3181926>
7. Bird TD. Alzheimer Disease Overview 1 . Clinical Characteristics of Alzheimer Disease. *Gene Rev.* 2018;1–12.
8. Booth HDE, Hirst WD, Wade-martins R. The Role of Astrocyte Dysfunction in Parkinson ' s Disease Pathogenesis. *Trends Neurosci* [Internet]. 2017;40(6):358–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2017.04.001>
9. Briggs R, Kennelly SP, O'neill D. CMJv16n3-Briggs.indd. *Clin Med (Northfield Il).* 2016;16(3):247–53.
10. Bulck M Van, Sierra-Magro A, Alarcon-Gil J, Perez-Castillo A, Morales-Garcia JA. Novel approaches for the treatment of alzheimer's and parkinson's disease. *Int J Mol Sci.* 2019;20(3).
11. Chen YG. Research Progress in the Pathogenesis of Alzheimer ' s Disease. 2018;131(13).
12. Chung W, Allen NJ, Eroglu C. Function , and Elimination. 2015;1–18.
13. Domínguez-Pinos M, Guerra M, Fernández-Llebrez P, Pérez-Fígares J-M, Jiménez A. Structure and function of the ependymal barrier and diseases associated with ependyma disruption. *Tissue Barriers.* 2014;2(March):e28426.
14. Emamzadeh FN, Surguchov A. Parkinson ' s Disease : Biomarkers , Treatment , and Risk Factors. 2018;12(August):1–14.

15. Fakhoury M. Microglia and astrocytes in Alzheimer's disease: implications for therapy. *Curr Neuropharmacol*. 2017;15:508–18.
16. Farfara D, Lifshitz V, Frenkel D. Neuroprotective and neurotoxic properties of glial cells in the pathogenesis of Alzheimer's disease: Alzheimer's Review Series. *J Cell Mol Med*. 2008;12(3):762–80.
17. Frost GR, Li Y, Frost GR. The role of astrocytes in amyloid production and Alzheimer's disease. 2017;1–14.
18. Frozza RL, Lourenco M V, Felice FG De. Challenges for Alzheimer's Disease Therapy : Insights from Novel Mechanisms Beyond Memory Defects. 2018;12(February):1–13.
19. Gorshkov K, Aguisanda F, Thorne N, Zheng W. Astrocytes as targets for drug discovery. *Drug Discov Today [Internet]*. 2018;23(3):673–80. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.01.011>
20. Hane FT, Robinson M, Lee BY, Bai O, Leonenko Z, Albert MS. Recent Progress in Alzheimer's Disease Research, Part 3: Diagnosis and Treatment. *J Alzheimer's Dis*. 2017;57(3):645–65.
21. Hansen D V, Hanson JE, Sheng M. 311. Microglia in Alzheimer's disease. 2014;2014(2):1–14.
22. Hara Y, Mckeehan N, Fillit HM. Translating the biology of aging into novel therapeutics for Alzheimer disease. 2019;0.
23. Hayes MT. Parkinson's Disease and Parkinsonism. *Am J Med [Internet]*. 2019;132(7):802–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2019.03.001>
24. Iii DCD, Sojkova J, Hurley S, Kecskemeti S, Okonkwo O, Bendlin BB, et al. Alterations of Myelin Content in Parkinson's Disease : A Cross-Sectional Neuroimaging Study. 2016;1–20.
25. Jäkel S, Dimou L. Glial cells and their function in the adult brain: A journey through the history of their ablation. *Front Cell Neurosci*. 2017;11(February):1–17.
26. Jessen KR. Glial cells. 2004;36:1861–7.
27. Joe E, Choi D, An J, Eun J, Jou I, Park S. Astrocytes , Microglia , and Parkinson's Disease. 2018;27(2):77–87.
28. Johanson CE, Johanson NL. Choroid Plexus Blood-CSF Barrier : Major Player in Brain Disease Modeling and Neuromedicine. 2018;3:39–58.
29. Jung YJ, Chung WS. Phagocytic roles of glial cells in healthy and diseased brains. *Biomol Ther*. 2018;26(4):350–7.
30. Kaur C, Rathnasamy G, Ling E. The Choroid Plexus in Healthy and Diseased Brain.

- 2016;75(3):198–213.
31. Kim YS, Jung HM, Yoon B. Exploring glia to better understand Alzheimer ' s disease. 2018;22(4):213–8.
  32. Kocahan S, Do Z. Mechanisms of Alzheimer ' s Disease Pathogenesis and Prevention : The Brain , Neural Pathology , N-methyl-D-aspartate Receptors , Tau Protein and Other Risk Factors. 2017;15(1):1–8.
  33. Le W, Wu J, Tang Y. Protective Microglia and Their Regulation in Parkinson ' s Disease. 2016;9(September):1–13.
  34. Lecours C, Bordeleau M, Cantin L, Parent M, Paolo T Di, Tremblay M-ève, et al. Microglial Implication in Parkinson ' s Disease : Loss of Beneficial Physiological Roles or Gain of Inflammatory Functions ? 2018;12(August):1–8.
  35. Lee MC Van Der. Role of Glia in Parkinson ' s Disease. 2014;
  36. Li K, Li J, Zheng J, Qin S. Reactive Astrocytes in Neurodegenerative Diseases. 2019;10(3):664–75.
  37. Long-smith M, Sullivan AM, Nolan YM. The influence of microglia on the pathogenesis of Parkinson ' s disease Progress in Neurobiology The influence of microglia on the pathogenesis of Parkinson ' s disease. 2009;(January 2019).
  38. Luca A, Calandra C, Luca M. Molecular Bases of Alzheimer's Disease and Neurodegeneration: The Role of Neuroglia. *Aging Dis.* 2018;9(6):1134.
  39. Magalingam KB, Radhakrishnan A, Ping NS, Haleagrahara N. Current Concepts of Neurodegenerative Mechanisms in Alzheimer ' s Disease Mechanisms in AD. 2018;2018.
  40. Marques F, Sousa JC, Sousa N, Palha JA. Blood – brain-barriers in aging and in Alzheimer ' s disease. *Mol Neurodegener* [Internet]. 2013;8(1):1. Available from: *Molecular Neurodegeneration*
  41. Massano J. *Atualização Clínica.* 2011;24:827–34.
  42. Mcgeer PL, Mcgeer EG. Glial Reactions in Parkinson ' s Disease. 2008;23(4):474–83.
  43. Mederos S, González-arias C, Perea G. Astrocyte – Neuron Networks : A Multilane Highway of Signaling for Homeostatic Brain Function. 2018;10(November):1–12.
  44. Michelucci A. Microglia in Health and Disease : A Unique Immune Cell Population. 2018;9(August):1–2.
  45. Monge-bonilla ASIAC. Molecular Pathogenesis of Alzheimer ' s Disease : An Update. 2017;10103:46–54.
  46. Moore SA. The Spinal Ependymal Layer in Health and Disease. *Vet Pathol.*

- 2016;53(4):746–53.
47. Mot AI, Depp C, Nave K. *Translational research*. 2018;1:283–93.
  48. Nasrabad SE, Rizvi B, Goldman JE, Brickman AM. White matter changes in Alzheimer ' s disease : a focus on myelin and oligodendrocytes. 2018;1–10.
  49. *Neurochemistry JOF. ( b ) ( c)*. 2016;136:10–7.
  50. Nirzhor SSR, Khan RI, Neelotpol S. The biology of glial cells and their complex roles in Alzheimer ' s disease: New opportunities in therapy. *Biomolecules*. 2018;8(3):1–21.
  51. Oliveira C. Pathological alteration in the choroid plexus of Alzheimer ' s disease : implication for new therapy approaches. 2012;3(May):1–5.
  52. Pepper RE, Pitman KA, Cullen CL, Young KM. How do cells of the oligodendrocyte lineage affect neuronal circuits to influence motor function, memory and mood? *Front Cell Neurosci*. 2018;12(November):1–14.
  53. Phatnani H, Maniatis T. *Astrocytes in Neurodegenerative Disease*. 2015;1–18.
  54. Philips T, Rothstein JD. *REVIEW SERIES : GLIA AND NEURODEGENERATION* Series Editors: Marco Colonna and David Holtzmann. *J Clin Invest [Internet]*. 2017;127(9):3271–80. Available from: <https://doi.org/10.1172/JCI90610>.
  55. Prà ID, Armato U, Chiarini A. Astrocytes' Role in Alzheimer's Disease Neurodegeneration. *Astrocyte - Physiol Pathol*. 2018;
  56. Ransohoff RM, Khoury J El. *Microglia in Health and Disease*. 2016;1–15.
  57. Rappold PM, Tieu K. Astrocytes and Therapeutics for Parkinson ' s Disease. 2010;7(October):413–23.
  58. Rasband MN. Glial Contributions to Neural Function and Disease. *Mol Cell Proteomics*. 2016;15(2):355–61.
  59. Sarlus H, Heneka MT, Sarlus H, Heneka MT. Microglia in Alzheimer ' s disease Find the latest version : *Microglia in Alzheimer ' s disease*. 2017;127(9):3240–9.
  60. Schachter AS, Davis KL. State of the art. :91–100.
  61. Simons M, Nave KA. Oligodendrocytes: Myelination and axonal support. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2016;8(1):1–15.
  62. Sofroniew M V, Vinters H V. Astrocytes : biology and pathology. 2010;7–35.
  63. Song N, Wang J, Jiang H, Xie J. *BBA - Molecular Basis of Disease Astroglial and microglial contributions to iron metabolism disturbance in Parkinson ' s disease*. *BBA - Mol Basis Dis [Internet]*. 2018;1864(3):967–73. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.01.008>

64. Spittau B. Aging Microglia — Phenotypes , Functions and Implications for Age-Related Neurodegenerative Diseases. 2017;9(June):1–9.
65. Takeuchi H. Roles of glial cells in neuroinflammation and neurodegeneration. *Clin Exp Neuroimmunol*. 2013;4:2–16.
66. Tremblay M, Cookson MR, Civiero L. Glial phagocytic clearance in Parkinson ’ s disease. 2019;8:1–14.
67. Ulep MG, Saraon SK, Mclea S. Alzheimer Disease. *TJNP J Nurse Pract* [Internet]. 2020;14(3):129–35. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nurpra.2017.10.014>
68. Verkhratsky A, Olabarria M, Noristani HN, Yeh C, Rodriguez JJ. Astrocytes in Alzheimer ’ s Disease. 2010;7(October):399–412.
69. Wegrzynowicz M, Lee E, Aaron B, Aschner M. *HHS Public Access*. 2018;39(1):115–23.
70. Wei Z, Fei Y, Su W, Chen G. Emerging Role of Schwann Cells in Neuropathic Pain : Receptors , Glial Mediators and Myelination. 2019;13(March):1–8.
71. Y.Y. Szeto J, J.G. Lewis S. Current Treatment Options for Alzheimer’s Disease and Parkinson’s Disease Dementia. *Curr Neuropharmacol*. 2016;14(4):326–38.
72. Yan J, Fu Q, Cheng L, Zhai M. Inflammatory response in Parkinson ’ s disease ( Review ). 2014;2223–33.