

João Gabriel de Oliveira Marques

Diabetes tipo 3 - Uma nova perspectiva sobre a Doença de Alzheimer

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Professor Doutor João António Nave Laranjinha e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, João Gabriel de Oliveira Marques, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009033568, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade Estágio Curricular.

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

Coimbra, 17 de Julho de 2014.

(João Gabriel de Oliveira Marques)

Abstract

The neurodegeneration that occurs in Alzheimer's disease (AD) is consistently associated with a number of characteristic abnormalities, including cell loss, abundant neurofibrillary tangles, amyloid- β deposits, increased activation of pro-death genes, impaired energy metabolism/mitochondrial function, and chronic oxidative stress. Evidence supports the concept that AD is fundamentally a metabolic disease with molecular and biochemical features that correspond with diabetes mellitus. Brain insulin/IGF resistance and its consequences can readily account for most of the structural and functional abnormalities in AD. However, disease pathogenesis is complicated by the fact that AD can occur as a separate disease process, or arise in association with systemic insulin resistance diseases, including diabetes and obesity. Thus, insulin-based therapies have emerged as potential strategies to slow cognitive decline in AD.

Keywords: Alzheimer, Type 3 Diabetes, Diabetes Mellitus, Insulin, IGF, Insulin resistance, tau, β -amyloid, Neurodegeneration, Cognitive Impairment, Neuro-inflammation.

Resumo

A neurodegeneração que ocorre na doença de Alzheimer (DA) é consistentemente associada com um número de anormalidades características como morte celular, tranças neurofibrilares abundantes, depósitos de amilóide- β , activação aumentada de genes apoptóticos, disfunções no metabolismo energético e funções mitocondriais, e *stress* oxidativo crónico. Evidências suportam que a DA é fundamentalmente uma doença metabólica com características moleculares e bioquímicas correspondentes à Diabetes Mellitus. A resistência à insulina/IGF e as suas consequências estão por detrás da maior parte das anormalidades estruturais e funcionais na DA. No entanto, a patogénese da doença é complicada pelo facto da DA poder ocorrer como uma doença separada, ou em associação com outras doenças insulino-resistentes como a Diabetes Mellitus ou obesidade. Por isso, terapias baseadas na insulina têm emergido como potenciais estratégias de redução e tratamento da disfunção cognitiva na DA.

Palavras-chave: Alzheimer, Diabetes tipo 3, Diabetes Mellitus, Insulina, IGF, Insulino-resistência, tau, amilóide- β , neurodegeneração, disfunção cognitiva, neuro-inflamação.

Índice

ÍNDICE DE ABREVIATURAS	3
INTRODUÇÃO	4
FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER	5
AÇÕES DA INSULINA E IGF NO CÉREBRO	5
DOENÇA DE ALZHEIMER COMO DIABETES TIPO 3	7
RESISTÊNCIA E DEFICIÊNCIA DE INSULINA/IGF.....	7
PATOLOGIA DA PROTEÍNA TAU	8
AMILÓIDE-B (A _B) E NEUROTOXICIDADE	9
DISFUNÇÃO METABÓLICA E STRESS OXIDATIVO	11
NEURO-INFLAMAÇÃO	12
POSSÍVEIS CAUSAS SUBJACENTES À RESISTÊNCIA CEREBRAL À INSULINA/IGF.....	13
ENVELHECIMENTO.....	14
OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICO	14
DIABETES MELLITUS.....	15
INTERVENÇÃO E TERAPÊUTICA.....	16
INSULINA	16
INSULINA INTRAVENOSA.....	16
INSULINA INTRANASAL	17
PPAR – RECEPTOR ACTIVADO POR PROLIFERADORES DE PEROXISSOMA	17
CONCLUSÃO E FUTURAS DIRECÇÕES	18
Bibliografia	19

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

DA- Doença de Alzheimer

DM – Diabetes Mellitus

DMt1 – Diabetes Mellitus tipo 1

DMt2 – Diabetes Mellitus tipo 2

DMt3 – Diabetes Mellitus tipo 3

APP-A β – Proteína precursora amilóide β

A β – Amilóide β

IGF – Factor de crescimento insulina-like

SRI-I – Substrato do receptor da insulina

SNC – Sistema nervoso central.

FoxO – Forkhead Box O

GSK-3 β – 3 β sintetase kinase do glicogénio

NF-kB – Factor nuclear kappa B

RI – Receptores da insulina

SRI – Substrato do receptor da insulina

IGF1-R – Receptores do IGF-I

PI3K – fosfoinositol-3-kinase

LCR – Líquido Céfaloraquídeo

EDI – Enzima degradadora da insulina

ROS – Espécies reactivas de oxigénio

RNS – Espécies reactivas de azoto

AGEs – Produtos de glicação avançada

HC – Hormona do crescimento

PPAR – Receptor activado por proliferadores de peroxissoma

INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é o tipo mais comum de demência (Fargo & Bleiler, 2014) (Monte, 2014), termo utilizado para a classificação de doenças e condições caracterizadas pela perda de memória e capacidade cognitiva que acaba por afectar a capacidade do doente de realizar tarefas diárias básicas. Manifesta-se inicialmente pela perda gradual da capacidade de lembrar novas informações, pois os primeiros neurónios a degenerar e morrer são normalmente os que estão localizados nas áreas do cérebro envolvidas na formação de novas memórias. À medida que neurónios localizados noutras partes do cérebro começam a degenerar e morrer, o doente começa a sentir novas e mais graves dificuldades, nomeadamente: dificuldade em planear e resolver problemas, confusão espaço temporal, alterações de humor e personalidade incluindo apatia e depressão (Fargo & Bleiler, 2014).

A DA é dividida em familiar e esporádica. A primeira ocorre em adultos jovens e parece ter um carácter hereditário, enquanto a esporádica desenvolve-se no contexto de uma grande variedade de factores. A DA esporádica representa 95% dos casos de DA sendo nesta que este trabalho se vai focar (Fargo & Bleiler, 2014).

A hipótese de que a neurodegeneração era causada por lesões específicas que caracterizavam a DA (e.g. acumulação A β , agregação da proteína Tau, neuro-inflamação), foi dominante durante décadas, no entanto uma sequência de estudos experimentais e humanos forneceu evidências significativas que a DA é uma doença metabólica onde o cérebro perde a capacidade de utilizar eficientemente a glicose para o seu metabolismo energético devido a uma resistência desenvolvida à insulina e ao factor de crescimento insulina-like (IGF) (Monte, 2014) (Steen et al., 2005). As principais características da Diabetes Mellitus (DM) é a disfunção nas vias de sinalização da insulina, devido a uma redução de produção de insulina (DM tipo 1) ou uma resistência generalizada à insulina (DM tipo 2), resultando em hiperglicemia crónica (Monte & Wands, 2008). Logo a DA pode ser designada como a DM do cérebro pois têm como características tanto a resistência à insulina (DMt2) como uma deficiência desta (DMt1). Para consolidar este conceito, foi proposto que a DA fosse referida como Diabetes Tipo 3 (DMt3) (Monte & Tong, 2014).

FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER

Nos estágios iniciais da DA as alterações morfológicas ocorrem principalmente no hipocampo, amígdala e no lobo temporal medial. A avaliação do volume do hipocampo e amígdala através de ressonância magnética fornece uma boa estimativa do grau de neurodegeneração, pacientes nos primeiros estágios de Alzheimer tem o hipocampo e a amígdala menos volumosos em relação a pacientes controlo (Ninomiya, 2014). Apesar da imagiologia e a análise de painéis de bio-marcadores permitirem a detecção e avaliação da gravidade da DA, um diagnóstico definitivo só pode ser obtido após exame *postmortem* do cérebro. Nesta fase, a presença e gravidade é avaliada pela distribuição e abundância de lesões características à DA, nomeadamente: perda neural, gliose, agregados insolúveis de tau fosforilada que formam tranças neurofibrilares, placas neuríticas acompanhadas de acumulação neurotóxica de proteína precursora amilóide β (APP-A β), neurite distrófica, agregados fibrilares e placas extracelulares de β -amilóide (Monte, 2014) (Steen et al., 2005) (Ninomiya, 2014). As anormalidades bioquímicas, moleculares e celulares que precedem e acompanham a neurodegeneração na DA incluem a activação aumentada de vias de sinalização e genes da apoptose, o metabolismo energético debilitado, a disfunção mitocondrial, o stress oxidativo crónico e o dano ao DNA (Monte & Wands, 2008). Tudo isto resulta na desconecção e degeneração das terminações sinápticas, rompimento da arquitectura laminar cortical, neuro-inflamação, perda de substância branca no cérebro e, por fim, morte celular (Monte, 2014).

AÇÕES DA INSULINA E IGF NO CÉREBRO

No sistema nervoso central (SNC), as vias de sinalização da insulina e IGFs participam em processos críticos na função cognitiva. A insulina é transportada activamente para o cérebro através da barreira hemato-encefálica onde se ligam aos receptores da insulina (RI), que se encontram distribuídos por todo o cérebro, com particular abundância no hipocampo e no córtex (Williamson et al., 2012) (Landreth et al., 2008). Estes têm alta homologia com os receptores do IGF-I (IGF1-R) sendo que ambas as moléculas, insulina e IGF-I, se conseguem ligar a ambos os receptores, embora com afinidade distintas, logicamente maior para a molécula nativa. Adicionalmente, os IR e IGF1-R podem formar receptores híbridos, sendo que este responde muito mais ao IGF-I que à insulina (Williamson et al., 2012).

No cérebro, a insulina é um modulador do metabolismo energético, estando também associada à aprendizagem e memória (Biessels et al., 2006) (Williamson et al., 2012). Aqui, a

insulina liga-se à subunidade α do RI, activando a fosforilação da subunidade β mediada pela actividade intrínseca de tirosina kinase do RI, levando à activação de vários mensageiros secundários das vias de transdução, cujos intermediários iniciais são denominados de substratos do receptor da insulina (SRI) (Figura 1). Uma das vias é a via kinase Shc/MAP que activa a expressão do gene requerido para o crescimento, manutenção e reparação das sinapses e células neurais. É também interveniente na modulação da plasticidade sináptica do hipocampo que está na base dos processos de aprendizagem e memória (Akter et al., 2010).

Outra via activada envolve o fosfoinositol-3-kinase (PI3K) que permite por sua vez a activação da Akt, esta que para além de ser um interveniente crítico na transmissão do sinal da insulina regula a β sintetase kinase do glicogénio (GSK-3 β). A activação da subunidade catalítica da PI3K catalisa a conversão da fosfoinositol-4,5-bifosfato (PIP2) em fosfoinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3) na membrana plasmática. Esta conversão permite que proteínas com domínios homólogos à plecstrina sejam activadas, como é o caso da Akt (Figura 1). A activação destas vias tem múltiplas consequências funcionais para além do metabolismo da glucose, nomeadamente a síntese de proteínas e lípidos e, por outro lado, efeitos vasculares positivos via activação da óxido nítrico sintase endotelial (Morris & Burns, 2012).

A insulina e IGFs funcionam também como inibidores da apoptose através de mecanismos que incluem a BAD (inibidor da Bcl-2), *Forkhead Box O* (FoxO), GSK-3 β e o factor nuclear kappa B (NF- κ B). A GSK-3 β é a principal kinase da tau e regula a sinalização via Wnt no cérebro através da fosforilação da β -catenina, levando à sua degradação através da via proteolítica ubiquitina-proteossoma. A partir do momento que a via Wnt medeia a plasticidade sináptica, deficiências na sinalização da insulina/IGF comprometem as variadíssimas funções executadas no cérebro por esta via. No fundo, os mecanismos activados e dependentes da insulina/IGF suportam o crescimento neural, sobrevivência, diferenciação, migração, metabolismo energético, expressão génica, síntese proteica, formação do citoesqueleto, formação sináptica, função neurotransmissora e plasticidade neural. Logicamente, deficiências na sinalização da insulina/IGF irá ter profundas consequências na integridade estrutural e funcional do SNC (Monte, 2014).

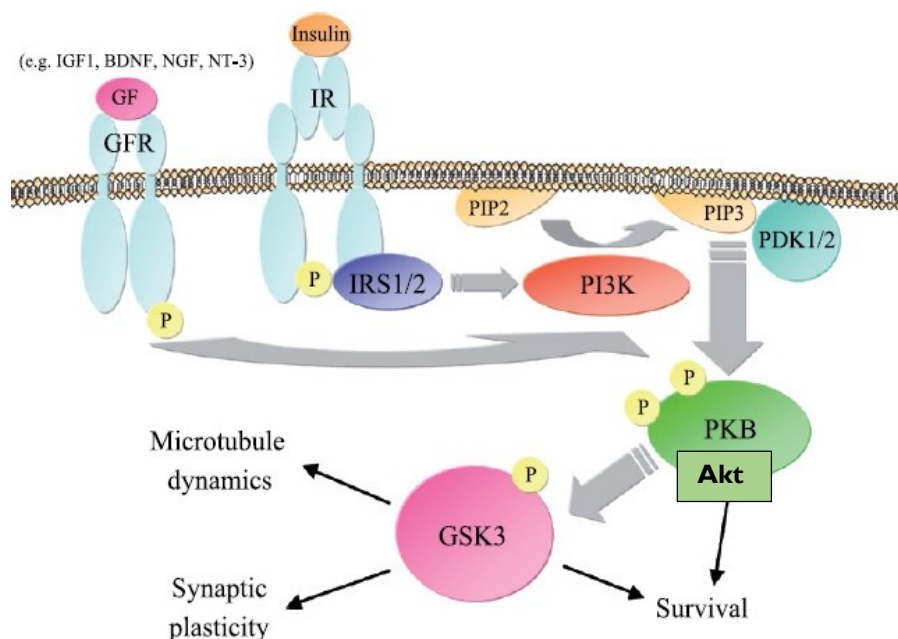


Figura 1. Sinalização da insulina e IGF. Abreviaturas não mencionadas:

IR – Receptor da insulina; IRS – Substrato do IR.

(Cole et al., 2007)

DOENÇA DE ALZHEIMER COMO DIABETES TIPO 3

O conceito da DA como uma doença metabólica emergiu de estudos que demonstravam a presença de uma deficiente utilização da glicose em fases muito iniciais do curso da doença, e ainda, estudos *postmortem* em pacientes com DA patologicamente provada, que revelaram a presença consistente de resistência à insulina/IGF assim como uma expressão reduzida do receptor da insulina/IGF e que estes se agravavam à medida que o curso da doença se desenrolava (Steen et al., 2005) (Monte & Tong, 2014).

RESISTÊNCIA E DEFICIÊNCIA DE INSULINA/IGF

As deficiências de sinalização da insulina/IGF são o resultado combinado dos efeitos decorrentes de: 1) resistência à insulina/IGF que se manifesta através da redução do número de receptores de insulina/IGF e uma diminuição da resposta celular à estimulação da insulina/IGF; 2) deficiência de insulina que surge devido à redução dos níveis do polipéptido de insulina e da expressão génica no cérebro e líquido cefalo-raquidiano; 3) disfunção das vias de sinalização dependentes da insulina/IGF (Monte & Tong, 2014).

Esta hipótese é suportada por informação experimental em animais onde é demonstrado que uma injeção intracerebroventricular de streptozotocina, um composto pró-diabético, causa deficiências na aprendizagem espacial e memória, assim como insulino-resistência no cérebro, deficiência desta no cérebro, neurodegeneração típica de DA sem no entanto causar Diabetes Mellitus (Monte & Wands, 2008) (Monte & Tong, 2014). Em contraste, uma administração sistémica de streptozotocina causa DM com esteatose hepática moderada assim como neurodegeneração. Daí que a Diabetes do cérebro (tipo 3) pode ocorrer independentemente da existência de DMt1 e DMt2 (Monte & Tong, 2014).

Estudos adicionais onde se utilizaram moléculas pequenas de RNA interferente mostraram que a interrupção molecular de receptores cerebrais de insulina/IGF era suficiente para causar danos cognitivos e degeneração do hipocampo com anormalidades moleculares similares às que se encontram caracteristicamente presentes na DA. Resistência crónica a insulina/IGF-I, diminui a integridade funcional do cérebro devido a alterações na sobrevivência neural, produção de energia, expressão génica e plasticidade neural (McNay et al., 2010) (Monte & Tong, 2014). A insulino-resistência cerebral foi relacionada com a acumulação de péptido β -amilóide ($A\beta$) e tau, os principais componentes das placas senis e das tranças neurofibrilares, respectivamente (Roriz-Filho et al., 2009).

PATOLOGIA DA PROTEÍNA TAU

Tranças neurofibrilares, neurites distróficas e filamentos de neuropilo representam lesões cito-esqueléticas neurais que podem ser correlacionadas com a gravidade da demência presente na DA. Estas lesões estruturais contêm agregados fibrilares de tau, uma proteína microtubular, hiperfosforilada, insolúvel e ubiquinada (Monte & Tong, 2014).

Foi verificado, num estudo *postmortem* onde os estágios de demência eram classificados segundo a escala Braak, que a progressão da doença era acompanhada de uma diminuição do mRNA tau e paralelamente uma redução da expressão de IR e IGF1-R (Monte & Wands, 2008).

Mecanicamente, a tau, é hiper-fosforilada devido a uma inactivação de kinases como a GSK-3 β , *kinase cyclin-dependent 5* (cdk-5) e c-Abl. Consequentemente, a tau torna-se deformada e agrega-se sobre si mesma formando fibrilas insolúveis que eventualmente irão formar tranças neurofibrilares, neurites distróficas e filamentos de neuropilo (Monte & Tong, 2014). Acumulações intra-neurais de tau fibrilar destabiliza as redes do citoesqueleto neural e

transporte axonal, levando à desconexão sináptica e neurodegeneração progressiva. Além da tau fibrilar, tau pré-fibrilar pode agregar, formando oligómeros solúveis de tau que também poderão contribuir para a neurodegeneração através da desconexão sináptica e morte neural. A eventual ubiquitinação de tau hiper-fosforilada em combinação com a disfunção da via proteolítica ubiquitina-proteossoma, exacerba a acumulação da tau fibrilar insolúvel e com isso a sua neurotoxicidade, aumentando assim: stress oxidativo, geração de radicais livres de oxigênio, apoptose neural, disfunção mitocondrial e necrose na DA (Monte, 2014).

A expressão do gene tau e a fosforilação da tau são reguladas pela insulina/IGF, logo anomalias na sinalização destes compostos irá contribuir para a hiper-fosforilação devido à activação de kinases específicas (GSK-3 β) e redução da expressão do gene tau. Tendo em conta em que deixa de ser possível produzir a quantidade suficiente de proteína tau e que existe a acumulação de tau fibrilar insolúvel hiper-fosforilada, estes dois eventos combinados irão promover o colapso do citoesqueleto neural, retracção neurítica e desconexão sináptica. Adicionalmente, a redução da sinalização através da PI3K, Akt, e Wnt/ β -catenina e o aumento da activação da GSK-3 β estão correlacionadas com a resistência à insulina/IGF (Figura 2). Logo, anomalias na sinalização através destas vias irão comprometer a sobrevivência neural, a manutenção da mielina, integridade sináptica, plasticidade neural, função mitocondrial e controlo do stress celular na DA (Monte & Tong, 2014).

AMILÓIDE-B (A β) E NEUROTOXICIDADE

Amiloidogénese, é uma condição na qual uma proteína solúvel se torna num agregado de proteínas fibrilares insolúveis, sendo considerado como um dos marcos patológicos típicos da DA. A acumulação no cérebro de placas senis, uma das características patológicas mais proeminentes da DA, resulta de um processamento anormal das proteínas no cérebro. Os componentes primários destas placas são péptidos denominados de A β_{1-40} e A β_{1-42} que são gerados a partir da clivagem proteolítica da APP-A β pelas β e γ -secretases (Correia et al., 2012) (Akter et al., 2010).

A hipótese da “cascata amilóide” prevê que a acumulação patológica da A β é a causa primária por trás tanto da DA familiar como a esporádica, onde as outras anormalidades neuropatológicas que causam a demência são nada menos que consequências da acumulação gradual e aberrante de A β . Tanto a A β_{1-40} como a A β_{1-42} são péptidos neurotóxicos, no entanto a A β_{1-42} é insolúvel e por isso têm uma maior propensão para agregar e formar placas senis.

A β existem primariamente em monómeros no entanto poderão formar oligómeros solúveis, actuando primariamente como uma neurotoxina na DA. Foi verificada uma correlação forte entre os níveis corticais de A β solúvel e a perda sináptica, reforçando mais uma vez a ideia de que os A β oligómeros solúveis mediadores importantes da perda sináptica e declínio cognitivo na DA (Correia et al., 2012).

Na forma familiar da DA, a síntese e deposição aumentada de A β é devido a mutações nos genes da APP-A β , da presenilina 1 e 2, ou herança do alelo da Apolipoproteína E e4 (ApoE-e4). Na DA esporádica a causa da acumulação de A β é ainda debatida, sendo que as evidências apontam que a deterioração da sinalização da insulina/IGF estejam por trás da desregulação da expressão e processamento da APP-A β levando consequentemente à acumulação de A β (Monte & Tong, 2014). A toxicidade da A β causa resistência cerebral à insulina assim como inflamação, sendo que a resistência à insulina quando associada a neuro-inflamação e stress oxidativo promove a acumulação e toxicidade de A β (Bardou et al., 2013) (Monte & Tong, 2014).

A insulina acelera o tráfego da A β da rede trans-golgi para a membrana plasmática e respectiva secreção extracelular, adicionalmente inibe a sua degradação através da enzima degradadora da insulina (EDI) (Monte & Tong, 2014). A EDI é uma metalo-protease que cataboliza a insulina e a A β , e desempenha um papel crítico na clearance da A β no cérebro. A insulina regula a expressão da EDI e compete directamente com a A β pela ligação à EDI (Williamson et al., 2012).

Em estados hiper-insulinémicos, a EDI pode ficar saturada com a degradação de insulina que permite a que a A β se acumule. Mais importante, a deterioração da sinalização da insulina/IGF poderá quebrar o processamento da APP-A β e a clearance da A β . Ao mesmo tempo, A β começa a competir com a insulina quebrando a sinalização desta, ou reduzindo a afinidade insulina com o seu próprio receptor. Oligómeros de A β também inibem a sinalização neural da insulina através da dessensibilização e redução da expressão de RI. A β intracelular interfere com a activação da Akt através da PI3K, levando a que haja uma redução da sinalização para sobrevida neural e aumento da activação da GSK-3 β e tau híper-fosforilada. Ao mesmo tempo, níveis elevados de GSK-3 β promove o processamento de APP-A β e a acumulação de A β (Figura 2) (Monte & Tong, 2014).

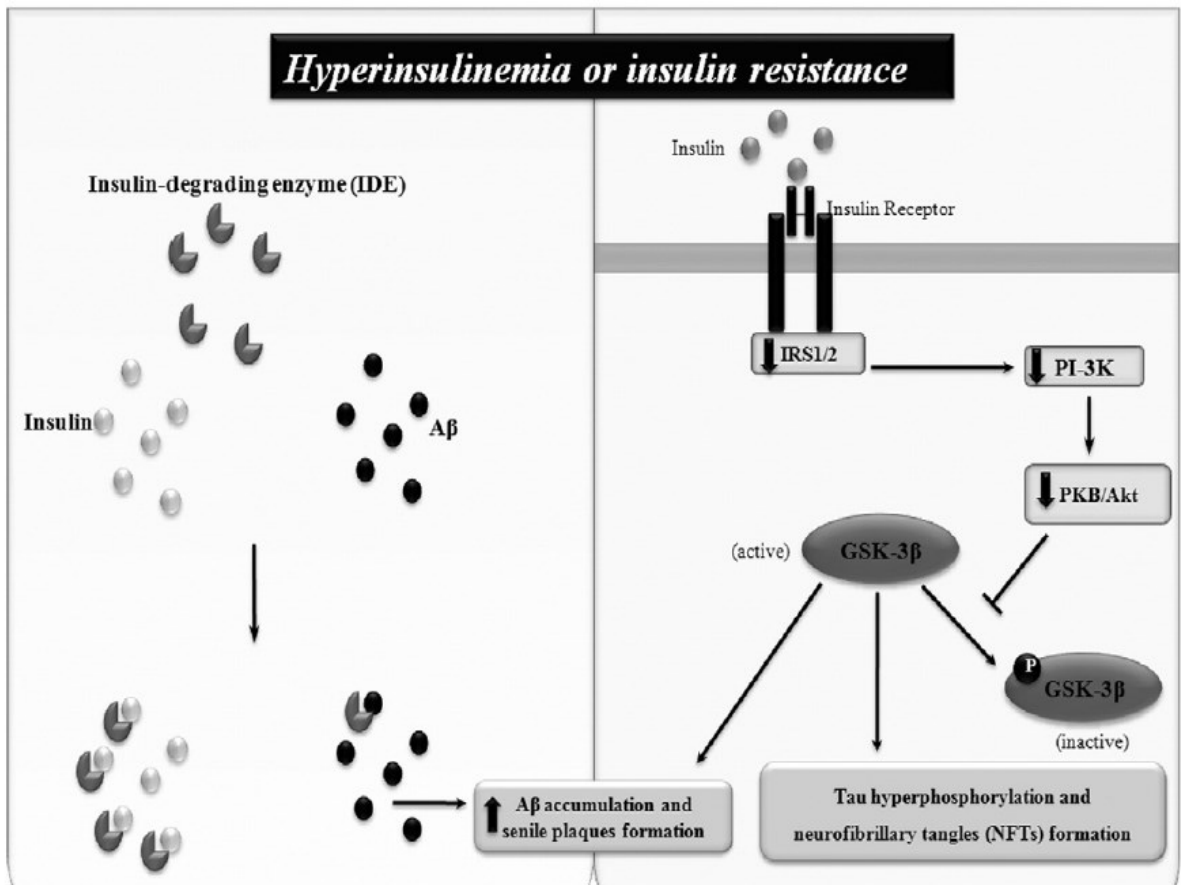


Figura 2. Envolvimento da insulina na patogênese da DA. A alteração da sinalização da insulina cerebral está associada com a ocorrência de dois grandes marcos neuropatológicos da DA, placas senis e tranças neurofibrilares. Em estados hiper-insulinêmicos, a insulina compete com a Aβ levando à acumulação da Aβ e formação de placas senis. Disfunções na sinalização da insulina culmina com a perda da ativação mediada pela insulina da via PI3K/Akt e subsequente fosforilação da GSK-3β, potenciando assim a hiper-fosforilação da tau (Tranças neurofibrilares) assim como a deposição de Aβ.

DISFUNÇÃO METABÓLICA E STRESS OXIDATIVO

As mitocôndrias são organelos ubíquos e dinâmicos que asseguram muitos processos críticos nas células eucarióticas. Estes organelos são responsáveis pelo metabolismo energético e geração de 90% do ATP na fosforilação oxidativa. Logicamente, a mitocôndria é uma das maiores fontes de espécies reativas de oxigênio (ROS) e consequentemente altamente sensível a dano oxidativo. Os neurónios são muito sensíveis a alterações na estrutura, localização e função mitocondrial pois estes têm uma capacidade glicolítica limitada, o que faz com que eles sejam muito dependentes da mitocôndria para a produção de energia. Na DA os neurónios exibem um stress oxidativo elevado, uma diminuição da massa mitocondrial e um aumento citoplasmático de DNA mitocondrial (Correia et al., 2012).

A sinalização da insulina e IGF regulam a utilização da glicose, metabolismo e síntese de ATP necessárias para a homeostasia e modulação dinâmica das funções celulares. Consequentemente, resistência cerebral à insulina/IGF são acompanhadas por desregulação da utilização de glicose e interrupção do metabolismo energético com acentuados aumentos de stress oxidativo, produção de ROS, danos no DNA, disfunção mitocondrial, onde todos em conjunto irão activar cascatas pró-apoptóticas, pró-inflamatórias, pró-A β e pró GSK-3 β (Monte, 2014).

Na DA, o stress oxidativo persistente leva à formação de espécies de ROS e RNS, onde estes por sua vez vão exacerbar o stress oxidativo já existente através do ataque a organelos como a mitocôndria. Estes ataques moleculares resultam na formação de adutos estáveis com DNA, RNA, lípidos e proteína comprometendo assim a integridade neural. A oxidação de aminoácidos conduz à formação de produtos de glicação avançada (AGEs) ou produtos de oxidação proteica avançada e desnaturação proteica tornando-as inactivas e vulneráveis à clivagem. Isto leva a uma disfunção celular onde níveis elevados de AGEs presentes em placas de A β e tranças neurofibrilares podem contribuir para a perda neural progressiva que ocorre com a neurodegeneração (Monte & Tong, 2014).

Adicionalmente, na DA, a reduzida clearance e a acumulação de A β permite que esta actue directamente na mitocôndria através da proteína mitocondrial álcool desidrogenase A β -ligante, o que conduz à falha mitocondrial devido ao aumento da permeabilidade membranar e actividades reduzidas das enzimas envolvidas na cadeia respiratória da mitocôndria (Correia et al., 2012).

O stress oxidativo vai então: 1) activar redes de sinalização pró-inflamatórias que exacerbam a disfunção organelar e os mecanismos pró-apoptóticos; 2) estimula a expressão do gene da APP-A β e a clivagem desta, resultando num aumento da formação de fibrilas de A β neurotóxicas; 3) activação da GSK-3 β que promove a hiper-fosforilação da tau. Logo, o stress oxidativo decorrente da resistência cerebral à insulina/IGF e disfunção metabólica vai contribuir para a perda neural, neurotoxicidade da A β , patologia da tau e neuro-inflamação na DA (Monte & Tong, 2014).

NEURO-INFLAMAÇÃO

No SNS, a activação microglial e inflamação estão correlacionadas com um número grande de condições neuropatológicas onde se inclui a DA. Um nível elevado de citocinas inflamatórias

(e.g. IL-1 e IL-6) conduz a uma alteração da plasticidade sináptica do hipocampo e alterações na aprendizagem espacial (Williamson et al., 2012). Produtos inflamatórios acumulam-se a diferentes velocidades em pacientes com a DA quando comparados com pacientes controlo, onde por exemplo a citocina IL-6 se encontra acumulada nas placas senis (Akter et al., 2010).

A microglia são os macrófagos tecidulares do cérebro e são derivados da linhagem mielóide. A formação e deposição de fibrilas A β no parênquima do cérebro provoca a activação fenotípica da microglia. A activação crónica da microglia e a produção de moléculas pró-inflamatórias têm sido postuladas como contribuidores para a progressão da DA exacerbando a deposição de A β (Landreth et al., 2008).

A neuro-inflamação contribui para a progressão da DA na medida em que promove a acumulação de A β , hiper-fosforilação da tau, stress oxidativo com produção de ROS e RNS e alterações na plasticidade neural. Adicionalmente, a neuro-inflamação exacerba a insulino-resistência e acumulação de ceramidas, um lípido tóxico que se origina devido ao metabolismo lipídico desregulado do reticulo endoplasmático sob stress oxidativo (Monte & Tong, 2014)(Landreth et al., 2008).

A neuro-inflamação apesar de contribuir para a neurodegeneração nos primeiros estágios da doença ainda gera alguma dúvida no que toca à sua contribuição para a progressão da DA. Esta encontra-se presente nos estágios iniciais da doença mas vai reduzindo à medida que a doença progride, ou seja, não é um factor que se desenrola ao longo da progressão da doença. O facto de estudos não terem conseguido obter provas conclusivas que terapêutica com anti-inflamatórios pudessem atrasar a neurodegeneração reflecte a complexidade e a natureza não-estática da neuro-inflamação (Monte & Tong, 2014).

POSSÍVEIS CAUSAS SUBJACENTES À RESISTÊNCIA CEREBRAL À INSULINA/IGF

Nos últimos anos este ramo tem-se expandido enormemente no que toca a informação relativa a causas e consequências da resistência à insulina/IGF e a sua relação com a disfunção cognitiva. Tem-se acentuado a ideia de que a DA na sua forma pura representa uma forma de diabetes do cérebro devido à progressão da doença estar relacionada com o aumento progressivo da resistência cerebral à insulina/IGF na ausência de DMt2, DMt1, obesidade e resistência periférica à insulina (Monte, 2014). No entanto, factores ambientais continuam a desempenhar um papel crítico, e existe estudos que comprovam o risco aumentado de desenvolver a DA em pacientes com problemas cardiovasculares, dislipidemias, colesterol,

hipertensão, obesidade e DMt2. No entanto o maior factor de risco é o envelhecimento onde a resistência à insulina/IGF aumenta com a idade (Akter et al., 2010).

ENVELHECIMENTO

Apesar da longevidade estar associada com a preservação da sensibilidade à insulina/IGF, a resistência à insulina/IGF aumenta com o envelhecimento. Por sua vez, o uso crónico das redes de sinalização da insulina e IGF ao longo da vida, como ocorre em casos de hiper-insulinemia e insulino-resistência, para além de efeitos danosos provoca a aceleração do envelhecimento. A redução dos níveis circulantes de hormona do crescimento (HC) e do metabolismo poderão potenciar o envelhecimento devido a deficiências no anabolismo que acelera a disfunção metabólica. Sabendo que, a deficiência de HC promove a obesidade, que por sua vez promove resistência à insulina e hiper-insulinemia, pode-se associar que os declínios de HC relacionados com o envelhecimento poderão mediar a resistência à insulina decorrente da idade. Outro factor chave na equação é a inflamação crónica de baixo grau que acompanha o envelhecimento, que poderá também conduzir à resistência da insulina (Monte & Tong, 2014).

OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICO

A obesidade, especialmente a obesidade central, é um factor de risco independente para a síndrome metabólico, dislipidemias, hipertensão e resistência à insulina. Foi verificado que pacientes com DA tinham em média a circunferência da cintura maior, níveis plasmáticos mais altos de triglicéridos e glicose, e níveis mais baixos de lipoproteínas de alta-densidade (HDL) (Akter et al., 2010).

No que toca ao cérebro, estudos epidemiológicos e clínicos demonstraram que níveis de glicose desregulados, deficiências na secreção e resistência à insulina, patológicas ou não, aumentam o risco de desenvolver disfunção cognitiva moderada e DA. Além disto, indivíduos obesos possuem um maior comprometimento de funções executivas, e possuem pelo menos o dobro do risco de desenvolver DA em relação ao resto da população. Experimentalmente, obesidade e DMt2 induzida por dieta causa uma redução da função cognitiva com consequências a nível de aprendizagem espacial e memória, atrofia cerebral com insulino-resistência, inflamação, stress oxidativo e disfunção colinérgica. A perda de peso em humanos

reduz a insulino-resistência periférica com melhoria da performance cognitiva e função neuropsiquiátrica (Monte & Tong, 2014).

Junto com a obesidade, vem o risco aumentado de desenvolver síndrome metabólica, que já por si só é um factor de risco para o desenvolvimento de disfunções cognitivas moderadas, demência vascular e DA devido à presença crónica de um estado pró-inflamatório e pró-trombótico (Roriz-Filho et al., 2009). Foi verificado que pacientes com síndrome metabólica que tivessem níveis elevados de proteína C reactiva e de IL-6, possuíam disfunção cognitiva ao contrário de pacientes com a mesma patologia mas sem estes marcadores elevados (Kodl & Seaquist, 2008). Adicionalmente, indivíduos que possuam síndrome metabólica possuem uma expressão reduzida de níveis de SRI-I e estão associados a disfunções na sinalização da insulina através da PI3K e Akt (Steen et al., 2005).

DIABETES MELLITUS

Tanto a DMt1 como a Dmt2 tem sido associadas a uma baixa performance cognitiva em numerosos domínios, onde a hiperglicemia e insulino-resistência tem papéis chaves na fisiopatologia (Kodl & Seaquist, 2008). Na DMt1 as principais disfunções cognitivas são uma velocidade e flexibilidade mental reduzida, ao passo que na DMt2 são disfunções na memória, aprendizagem e flexibilidade e velocidade mental (Biessels et al., 2006).

Doenças que provocam insulino-resistência muitas vezes sobrepõem-se no mesmo indivíduo, DMt2 e síndrome metabólica por exemplo. Estudos longitudinais demonstram que a DMt2, obesidade e dislipidemias estão correlacionadas com o desenvolvimento de disfunção cognitiva moderada, demência e DA. No entanto, estudos *postmortem* sugerem que estados de insulino-resistência periférica contribuem para a progressão de disfunções cognitivas e DA, mas não são causas independentes destas patologias (Monte & Tong, 2014).

A DMt1 e DMt2 contribuem para a progressão da DA através de diferentes mecanismos. Na DMt1 a deficiência de insulina parece ser o maior factor contribuinte para a fosforilação da tau. Na DMt2 os efeitos combinados da hiperglicemia na patologia da tau (clivagem e fosforilação da tau) e as disfunções da insulina servem de pontes entre a DMt2 e DA (Correia et al., 2012).

INTERVENÇÃO E TERAPÊUTICA

Se, houver de facto uma ligação bioquímica entre DMt2 e a DA, será então possível uma intervenção terapêutica na DA com fármacos já aprovados para a DMt2? Esta é uma das principais razões que se estudou a ligação entre DMt2 e a DA, para poder identificar os processos moleculares que exacerbam a patologia molecular e disfunção cognitiva. O estabelecimento desta ligação trás ímpeto para a validação de programas de desenvolvimento de fármacos e ensaios clínicos. No presente, está claro que uma intervenção no estilo de vida com o objectivo de reduzir a gordura visceral melhora a sensibilidade à insulina e o controlo da glicemia. Esta intervenção é muito válida para jovens e adultos de meia-idade recentemente diagnosticados com DM e que são igualmente obesos (Cole et al., 2007).

INSULINA

O interesse na insulina como potencial terapia para pacientes com DA, emergiu de um conjunto de ensaios clínicos onde indicavam que, indivíduos com DMt2 possuíam um maior risco de desenvolver disfunções cognitivas moderadas e DA (Morris & Burns, 2012). No hipocampo a insulina é, tal como a glicose, um componente essencial para os processos de memória e performance cognitiva e em estudos experimentais verificou-se que uma administração local de insulina produz rápidos efeitos (McNay et al., 2010). Neste momento, encontram-se sob investigação três métodos de melhorar os efeitos da insulina no cérebro: insulina intravenosa, insulina intranasal e sensibilizadores da insulina (metformina e agonistas do PPAR) (Morris & Burns, 2012).

INSULINA INTRAVENOSA

Os primeiros ensaios clínicos para estudar os efeitos da insulina no cérebro relativamente à cognição foram realizado através de infusão intravenosa. Foi verificado através de vários pequenos estudos que esta terapêutica têm benefícios na memória dos pacientes. Dois estudos adicionais em pacientes com DA, concluíram que administração intravenosa de insulina melhorava a memória declarativa e a disfunção cognitiva (Morris & Burns, 2012).

INSULINA INTRANASAL

Tendo sido verificado que em pacientes com DA os níveis de insulina no cérebro encontram-se reduzidos, os estudos têm-se direccionado para os benefícios da administração intranasal pois permite evitar problemas da insulina na passagem da barreira hemato-encefálica, reduz a preocupação com as hipoglicemias associadas com a administração intravenosa e por isso permite tempos de terapêuticas superiores (Williamson et al., 2012). A insulina quando administrada por via intranasal tem a capacidade de penetrar o cérebro através de transporte axonal e via trigeminal num curto espaço de tempo (Akter et al., 2010). Após a administração intranasal, o pico de insulina no LCR é atingido ao fim de 30 minutos sem que haja qualquer efeito a nível sistémico no que toca a níveis de glicose. Apesar dos presentes estudos terem revelado benefícios no que toca à disfunção cognitiva, principalmente em jovens adultos, ensaios clínicos de maiores dimensões são necessários para ser possível obter mais evidências (Morris & Burns, 2012).

PPAR – RECEPTOR ACTIVADO POR PROLIFERADORES DE PEROXISSOMA

A família dos PPAR é constituída por três receptores nucleares (α , β , γ) que actuam como sensores lipídicos onde a função de cada membro é regular um conjunto de genes específicos responsáveis pelo metabolismo energético e lipídico. O PPAR- γ foi reconhecido recentemente como um alvo terapêutico no tratamento da DA (Landreth et al., 2008). Este é um neuromodulador chave tendo sido achado em quantidades aumentadas no cérebro de pacientes com DA (Akter et al., 2010). O PPAR- γ desempenha funções em múltiplos processos que envolvem a patogénese da DM e DA como: processos inflamatórios, metabolismo energético e lipídico, crescimento e diferenciação celular, e acções da insulina. Com base neste conhecimento, foi então proposto a utilização de agonistas do PPAR- γ como opção de tratamento na DA (Landreth et al., 2008)(Akter et al., 2010). O seu mecanismo envolve a estimulação da acção do PPAR- γ em resposta a alterações na insulina, funcionando então como um sensibilizante à insulina. Estes fármacos melhoram a insulino-resistência, promove a homeostasia do colesterol e do cálcio no hipocampo, reduz a formação e acumulação de A β e reduz a neuro-inflamação através da inibição de IL-6 e do factor de necrose tumoral (Akter et al., 2010). Os principais efeitos da terapêutica com agonistas do PPAR- γ são: controlar a proliferação de A β , melhorar a cognição, prevenir atrofia cerebral e

preservar os neurónios que expressam receptores de insulina e IGF (Akter et al., 2010) (Monte & Wands, 2008).

Um exemplo de um agonista da PPAR- γ é a rosiglitazona, onde através de estudos experimentais e ensaios clínicos foi possível verificar a utilização desta ao longo de pelo menos seis meses, havia uma melhoria na atenção e uma preservação da memória em pacientes com disfunção cognitiva moderada e amnésica (Williamson et al., 2012) (Escribano et al., 2009). Esta provou ser eficaz na redução dos níveis de A β , com respectivas melhorias nas disfunções de cognição e aprendizagem, sugerindo que a rosiglitazona melhora a sinalização da insulina e reduz os níveis desta que está em competição com a A β pela ligação à EDI (Correia et al., 2012). Noutro estudo foi verificado que a pioglitazona, outro agonista do PPAR- γ , melhorava a sensibilidade à insulina, a cognição e estabilizava a DA em pacientes com DM (Sato et al., 2011).

CONCLUSÃO E FUTURAS DIRECÇÕES

A DA é fundamentalmente uma doença neuroendócrina do cérebro originada por disfunções dos mecanismos de sinalização e produção local da insulina e IGF, onde são mimetizados os efeitos e consequências da DM.

A resistência cerebral à insulina/IGF, quer seja primária ou secundária, inicia uma cascata de processos como neuro-inflamação, stress oxidativo aumentado, disfunção mitocondrial, metabolismo lípido desregulado e disfunção na sobrevivência celular. Estes processos comprometem as funções gliais e neurais, reduzindo a homeostasia dos neurotransmissores, alterações no citoesqueleto neural (tau) e das funções da APP-A β , causando a acumulação de tranças neurofibrilares (tau) e placas senis (A β).

A DA progride devido à activação de um loop, prejudicial, com feedback positivo e que se auto-reforça, agravando progressivamente a insulino-resistência. Adicionalmente ocorre a formação de ROS e RNS que formam adutos lipídicos, proteicos e no DNS que dá origem a anomalias celulares e moleculares, exacerbando ainda mais os danos do loop inicial.

Referir-se à DA como a DMt3 é justificado pois as anormalidades moleculares e bioquímicas apesar de similares com as da DMt1 e DMt2 não são iguais nem se sobrepõem. Algumas das informações mais relevantes que suportam este conceito, vieram de ensaios clínicos que demonstravam melhorias em pacientes com DA em estágios iniciais a seguir ao tratamento

com insulina intranasal ou agonistas do PPAR. Estas terapias, apesar de promissoras, requerem estudos adicionais para demonstrar o benefício-risco e eficácia noutros estágios da doença antes de ser considerada como terapêutica para a DA.

Adicionalmente, é necessário mais estudos para avaliar o impacto de mediadores exógenos da neurodegeneração (nitrosaminas), e o espectro de agentes que podem produzir anormalidades que levem à neurodegeneração típica de DA.

Bibliografia

- Akter, K., Lanza, E. A., Martin, S. A., Myronyuk, N., Rua, M., Raffa, R. B. (2010). Diabetes mellitus and Alzheimer's disease: shared pathology and treatment? *British Journal of Clinical Pharmacology* 71, 365-376.
- Bardou, I., Brothers, H. M., Kaercher, R. M., Hopp, S. C., Wenk, G. L. (2013). Differential effects of duration and age on the consequences of neuroinflammation in the hippocampus. *Neurobiology of Aging* 34, 2293-2301.
- Biessels, G. J., Staekenborg, S., Brunner, E., Brayne, C., Scheltens, P. (2006). Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. *Lancet Neurol* 5, 64-74.
- Cole, A. R., Astell, A., Green, C., Sutherland, C. (2007). Molecular connexions between dementia and diabetes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 31, 1046–1063.
- Correia, S. C., Santos, R. X., Carvalho, C., Cardoso, S., Candeias, E., Santos, M. S., Oliveira, C. R., Moreira, P. I. (2012). Insulin signaling, glucose metabolism and mitochondria: Major players in Alzheimer's disease and diabetes interrelation. *BRAIN RESEARCH* 1441, 64-78.
- Escribano, L., Simón, A., Pérez-Mediavilla, A., Salazar-Colocho, P., Río, J. D., Frechilla, D. (2009). Rosiglitazone reverses memory decline and hippocampal glucocorticoid receptor down-regulation in an Alzheimer's disease mouse model. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 379, 406-410.
- Fargo, K., Bleiler, L. (2014). Alzheimer's Association Report, 2014 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia* 10, e47-e92.
- Kodl, C. T., Seaquist, E. R. (2008). Cognitive Dysfunction and Diabetes Mellitus. *Endocrine Reviews* 29, 494-511.

- Landreth, G., Jiang, Q., Mandrekar, S., Heneka, M. (2008). PPAR Agonists as Therapeutics for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* 5, 481-489.
- McNay, E. C., Ong, C. T., McCrimmon, R. J., Cresswell, J., Bogan, J. S., Sherwin, R. S. (2010). Hippocampal memory processes are modulated by insulin and high-fat-induced insulin resistance. *Neurobiol Learn Mem* 93, 546-553.
- Monte, S. M. (2014). Type 3 diabetes is sporadic Alzheimer's disease: Mini-review. *European Neuropsychopharmacology*. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.euroneuro.2014.06.008
- Monte, S. M., Tong, M. (2014). Brain metabolic dysfunction at the core of Alzheimer's disease. *Biochemical Pharmacology* 88, 548-559.
- Monte, S. M., Wands, J. R. (2008). Alzheimer's Disease Is Type 3 Diabetes—Evidence Reviewed. *Journal of Diabetes Science and Technology* 2, 1101-1113.
- Morris, J. K., Burns, J. M. (2012). Insulin: An Emerging Treatment for Alzheimer's Disease Dementia? *Curr Neurol Neurosci Rep* 12, 520-527.
- Ninomiya, T. (2014). Diabetes Mellitus and Dementia. *DIABETES AND OTHER DISEASES-EMERGING ASSOCIATIONS* 14:487.
- Roriz-Filho, J. S., Sá-Roriz, T. M., Rosset, I., Camozzato, A. L., Santos, A. C., Chaves, M. L., Moriguti, J. C., Roriz-Cruz, M. (2009). (Pre)diabetes, brain aging, and cognition. *Biochimica et Biophysica Acta* 1792, 432-443.
- Sato, T., Hanyu, H., Hirao, K., Kanetaka, H., Sakurai, H., Iwamoto, T. (2011). Efficacy of PPAR agonist pioglitazone in mild Alzheimer disease. *Neurobiology of Aging* 32, 1626-1633.
- Steen, E., Terry, B. M., Rivera, E. J., Cannon, J. L., Neely, T. R., Tavares, R., Xu, X. J., Wands J. R., Monte, S. M. (2005). Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease--is this type 3 diabetes? *Journal of Alzheimer's Disease* 7, 63-80.
- Williamson, R., McNeilly, A., Sutherland, C. (2012). Insulin resistance in the brain: An old-age or new-age problem? *Biochemical Pharmacology* 84, 737-745.