



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**PARA A COMPREENSÃO DO CONTRIBUTO DA EPIGENÉTICA
NA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Trabalho submetido por
Mafalda Nunes Da Silva Miranda
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

outubro de 2016



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**PARA A COMPREENSÃO DO CONTRIBUTO DA EPIGENÉTICA
NA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Trabalho submetido por
Mafalda Nunes Da Silva Miranda
para a obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Alexandre Quintas

outubro de 2016

Dedicatória

“Time moves in one direction, memory in another”

William Gibson

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz por toda a dedicação no ensino tanto em termos de corpo docente como em material prático que me permitiu adquirir conhecimentos fundamentais na nossa área.

Ao meu orientador, Prof. Doutor Alexandre Quintas, pela sua disponibilidade e infinita ajuda, sem a qual não seria possível concluir esta dissertação.

Gostaria também de agradecer a todos os professores que me transmitiram os seus conhecimentos e valores para a minha vida profissional.

Aos meus pais, irmã e avós pelo seu apoio e pela persistente paciência ao longo destes cinco anos, e em especial à minha mãe pelo seu pleno e constante apoio apesar das adversidades e lutas que enfrentou.

Ao meu namorado, que me acompanhou neste capítulo da minha vida e me ajudou a ultrapassar os vários obstáculos que se entrepunham no meu caminho.

Aos meus colegas que me acompanharam estes cinco anos, proporcionando momentos inesquecíveis e de entreajuda.

Aos meus amigos. Aos do secundário que continuam presentes nestes momentos da minha vida e me apoiam incondicionalmente. Às minhas amigas de infância e ginástica, com as quais cresci e me acompanharam sempre no meu percurso, sem me julgar e dando sempre o melhor delas para o meu bem. Em especial, à minha melhor amiga Maria Inês Soares, que me apoiou e esteve sempre a meu lado sem nunca desistir. Aos meus amigos que fiz na faculdade, que sei que serão para a vida, por terem iniciado e encerrado um dos capítulos mais difíceis e complicados das nossas vidas, por terem estado presentes em todos os momentos, e que assim seja para o resto dos meus dias. Querendo aqui salientar, a Joana Correia, que me acompanhou desde o nosso primeiro ano e desde então suportou comigo todas as aventuras e desavenças, à Fátima Evangelista, que está sempre presente e dá sempre a sua opinião mais sincera, ao Ivan Real, pela incansável ajuda e intermináveis comentários encorajadores e ao Diogo Leitão, pela infinita paciência, ajuda, companhia sem nunca desistir.

E por último, mas não menos importante, ao meu avô, que já não está presente, mas que ao longo destes vinte e três anos fez o seu possível e impossível por mim e para mim. A ele o meu eterno obrigado.

A todos vocês o meu enorme Obrigada.

Resumo

A doença do Alzheimer (DA) é uma das doenças mais complexas entre as patologias do foro neurodegenerativo. Esta é caracterizada como uma doença lenta, progressiva e irreversível que se manifesta através da perda de cognição e memória. A DA é responsável por cerca de 50% a 70% dos casos de demência. A incidência e a prevalência da doença aumentam exponencialmente com a idade, principalmente em idades acima dos 65 anos. Para esta doença são conhecidas duas formas, o Alzheimer de início tardio e o Alzheimer de início precoce.

Estudos recentes sugerem que alterações de natureza epigenética estão associadas à DA. Esta nova área de estudo associa a influência do ambiente sobre a expressão génica, ou seja a capacidade de fatores ambientais induzirem alterações no fenótipo sem afectarem a sequência de ADN. As principais alterações epigenéticas que afetam o fenótipo são a nível da metilação do ADN, modificação de histonas, modificação da cromatina e regulação do RNA não codificante.

A terapia na DA tem como objetivos a terapêutica específica, a terapêutica profilática e o tratamento sintomático. Os fármacos disponíveis para o tratamento são a tacrina, o donepezilo, a galantamina, a rivastigmina e a memantina. Para a DA o único objetivo da utilização destes fármacos é retardar a sua progressão. Tem também vindo a ser estudada a hipótese da utilização de terapia epigenética para o seu tratamento. As classes mais desenvolvidas neste âmbito são as dos inibidores das DNMT e inibidores das HDACs. Estas classes são usadas com o objetivo de reverter as alterações epigenéticas.

O tema abordado neste trabalho é relativamente recente, sendo uma área em desenvolvimento. Com isto, é essencial que a investigação desta doença continue no âmbito de se encontrar uma cura e diminuir assim a taxa de mortalidade.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer; Epigenética; Tratamento; Terapia

Abstract

The Alzheimer disease (AD) is one of the most complex diseases among neurodegenerative disorders. AD is characterized as a slow, progressive and irreversible disease manifested by loss of cognition and memory. AD is responsible for 50% to 70% of dementia cases in the world. The incidence and prevalence of the disease rises exponentially with age, especially above 65 years old. Two forms of this disease are known, the late-onset and early-onset.

Epigenetic factors seem to influence the on-set and development of this disease. This new area of study combines genetic and environmental factors capable of inducing changes in phenotype without modifying the DNA sequence. The major epigenetic changes that affect the phenotype is DNA methylation, histone modification, chromatin modification and regulation of noncoding RNA.

The treatment of AD target specific therapy, prophylactic therapy and symptomatic treatment. The therapy available for the treatment are tacrine, donepezil, galantamine, rivastigmine and memantine. For AD the purpose of using these drugs is to slow its progression. It has also been studied the possibility of using epigenetic therapy for its treatment. The classes most developed in this area are the inhibitors of DNMT and inhibitors of HDACs. These classes are used in order to reverse epigenetic changes.

The issue addressed in this study is an area relatively recent and under development. With this, it is essential that the investigation of this disease continues with the objective to find a cure.

Keywords: Alzheimer's Disease; Epigenetics; Treatment; Therapy

Índice

Resumo	1
Abstract	3
Índice	5
Índice de Figuras	7
Índice de Tabelas	9
Lista de Abreviaturas	11
1. Introdução	13
1.1 Doença de Alzheimer	13
1.2 Prevalência	15
1.3 Epigenética	16
1.4 Objetivos do trabalho	19
2. Metodologia	21
3. Diferenças entre Alzheimer de início tardio e Alzheimer de início precoce	23
4. A Epigenética na Doença do Alzheimer	27
4.1 Implicações	32
4.2 Mecanismo de Ação	33
4.3 Consequências	37
5. Terapêuticas na Doença de Alzheimer	39
5.1 Fármacos Disponíveis	40
5.2 A Influência da Epigenética no Tratamento	43
6. Outras Abordagens	47
7. Conclusão	51
8. Bibliografia	53

Índice de Figuras

Figura 1. Hipótese da cascata de β -amilóide.....	14
Figura 2. Via de transmissão do sinal epigenético	17
Figura 3. A epigenética como um mecanismo na etiologia da doença	18
Figura 4. A Epigenética como Biomarcador	18
Figura 5. Mecanismos pelos quais ocorrem as alterações na DA	24
Figura 6. Investigação da DA vs Alterações epigenéticas na DA	27
Figura 7. A metilação do ADN.	28
Figura 8. Os diferentes processos de modificação de histonas	29
Figura 9. As quatro famílias definidas pelo seu domínio de ATPase	30
Figura 10. A influência dos microRNAs na DA	31
Figura 11. Etiologia da Doença de Alzheimer	33
Figura 12. Modificação de histonas.....	36
Figura 13. Mecanismos epigenéticos na Doença de Alzheimer.....	37
Figura 14. Sinapse colinérgica	41
Figura 15. Inibidores das HDACs na DA.....	45
Figura 16. Mecanismo pelo qual ocorre o stress oxidativo	48
Figura 17. Processo de neuroinflamação na DA	48

Índice de Tabelas

Tabela 1. Diferenças entre Alzheimer tardio e Alzheimer precoce.....	25
Tabela 2. As diferentes alterações causadas pela metilação do ADN	34
Tabela 3. Comparação entre os fármacos da classe de iAChE.....	42
Tabela 4. Desenvolvimento clínico dos fármacos em estudo para a DA	44

Lista de Abreviaturas

DA- Doença de Alzheimer

apoE- Apolipoproteína E

A β - beta-amilóide

APP- Do inglês, Amyloid Precursor Protein (Proteína Percursora de amilóide)

MAP1, MAP2- Proteínas Associadas ao Microtúbulo

ADN- Ácido Desoxirribonucleico

RNA- Ácido Ribonucleico

LCR- Líquido Cefalorraquidiano

ptau- Tau fosforilada

CpG- Citosina-fosfato-Guanina

DNMT- Metiltransferases do ADN

ATP- Adenosina Trifosfato

tRNA- RNA de transferência

rRNA- RNA ribossômico

snRNA- RNA nuclear pequeno

miRNA- microRNA

HATs- Acetiltransferases

HDACs- Desacetilases

NTs- Neurotransmissores

Ach- Acetilcolina

AchE- Acetilcolinesterase

iAchE- inibidores da acetilcolinesterase

NMDA- N-metil-D-aspartato

mg- miligrama

SAPK- Do inglês, proteína cinase ativada pelo stress

Redox- Reações de oxidação-redução

SNC- Sistema Nervoso Central

1. Introdução

1.1 Doença de Alzheimer

A doença do Alzheimer (DA) é uma das mais complexas doenças do foro neurodegenerativo e é caracterizada por ser uma doença lenta, progressiva e irreversível manifestada através da perda de cognição e memória (Cummings, Disorders, & As-, 2004). Esta doença foi descoberta por Alois Alzheimer em 1907 (Lucas, Freitas, & Monteiro, 2013).

Este tipo de demência manifesta-se através do aumento de células nervosas que se deterioram e morrem. Consequentemente, as sinapses responsáveis pela transmissão de informação nervosa entre neurónios, falham e deixam de transmitir a informação nervosa necessária ao bom funcionamento do cérebro (Association, 2010).

São conhecidas duas formas de Alzheimer, o Alzheimer de início tardio, caracterizado pelo surgimento em idades mais avançadas, e o Alzheimer de início precoce, caracterizado pelo aparecimento em idades inferiores a 65 anos, maioritariamente hereditário (Chouraki & Seshadri, 2014). A distinção entre estes dois tipos de Alzheimer será abordada mais à frente no capítulo III.

Das múltiplas causas associadas ao aparecimento da DA, destacam-se três: O alelo $\epsilon 4$ da apolipoproteína E (apoE), um dos grandes fatores de risco para o aparecimento da DA e também um importante indicador do seu desenvolvimento, uma outra causa para o desenvolvimento desta doença é a acumulação das placas de beta-amilóide, a terceira causa é a neurodegeneração mediada pela tau.

Relativamente ao alelo $\epsilon 4$ da apoE, no corpo humano este gene situa-se no braço longo do cromossoma 19 (19q13.2) (Petersen et al., 2015). A informação contida neste gene é importante para a formação da proteína apoE, uma vez que esta proteína é fundamental no mecanismo de redistribuição de triglicéridos e colesterol nos vários tecidos do organismo humano. Esta associação foi feita pela primeira vez em 1993 na Universidade de Duke. O segundo órgão de maior importância na síntese de apoE é o cérebro, assumindo um papel específico na formação das placas amilóides, o que sucede é uma interação entre a beta-amilóide ($A\beta$) solúvel e a apoE, criando um complexo apoE- $A\beta$ que posteriormente é digerido enzimaticamente e origina duas porções, uma é degradada e a outra promove a acumulação de placas amilóides que irão ser excretadas para o meio

extracelular (Ojopi, Bertoncini, & Dias Neto, 2004).

A proteína beta-amilóide é o maior componente das placas sendo caracterizada como o maior agente da patologia da DA, isto porque os níveis desta proteína na doença se encontram aumentados, o que leva a um aumento extracelular de placas de fibras amilóides de $A\beta$. Juntamente com as fibras amilóides também se encontram fibras neurocelulares desordenadas. A deposição destas placas amilóides leva a uma grande diminuição de neurónios no cérebro (Sung, Choi, Lyu, Mook-Jung, & Ahn, 2014). A hipótese da cascata de beta-amilóide preconiza que a proteína beta-amilóide ($A\beta$ P) deriva da proteína precursora de amilóide (APP). Esta proteína precursora insere-se na membrana citoplasmática através de dois processos. Um dos processos inclui a clivagem, pela APP secretase, em fragmentos que não incluem $A\beta$ P intacta e o outro inclui a clivagem no compartimento endossomal que resulta em $A\beta$ P intacta. Esta última tem uma elevada propensão para agregar, formar fibras amilóides e precipitar para a forma de placas de amilóide. As placas amilóides por sua vez originam fibras neurocelulares desordenadas e morte celular (Hardy & Selkoe, 2013).

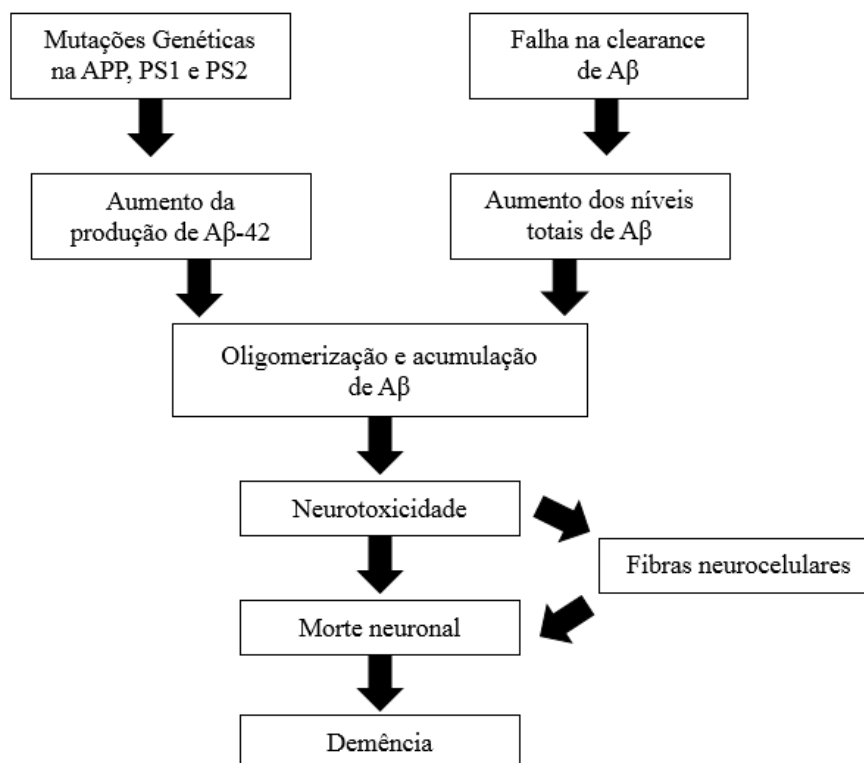


Figura 1. Hipótese da cascata de β -amilóide (Retirado e adaptado de McKenzie & Gray-Donald, 2009).

A tau é uma proteína neuronal cuja atividade se centra na formação e estabilidade dos microtúbulos através do seu grau de fosforilação (Ballatore & Trojanowski, 2007). Desta forma, a tau é responsável pelo funcionamento normal das proteínas associadas ao microtúbulo, MAP1 e MAP2. Na DA ocorre a deficiente hiperfosforilação da tau, o que leva à sua acumulação e à acumulação de MAP1 e MAP2, originando por um lado o desmembramento dos microtúbulos que leva à perda de sinapses, por outro lado existe a polimerização da tau normal e hiperfosforilado, tendo por sua vez um resultado comum que é a morte de neurónios (Iqbal et al., 2005).

1.2 Prevalência

A DA é responsável por cerca de 50% a 70% dos casos de demência, sendo a doença mais prevalente. A prevalência desta doença no mundo inteiro estima-se que seja superior a 24 milhões e é esperado que este número dobre em cada 20 anos até 2040, uma vez que a população está a envelhecer cada vez mais depressa (Mayeux & Stern, 2015).

A incidência e a prevalência da doença aumentam exponencialmente com a idade, principalmente em idades acima dos 65 anos. A América do Norte e a Europa Ocidental têm a taxa mais elevada de prevalência de DA, a partir dos 60 anos (6.4% e 5.4%, respetivamente). Com uma taxa inferior encontram-se a América Latina e China (4.9% e 4.0%, respetivamente) (Santana, Farinha, Freitas, Rodrigues, & Carvalho, 2015).

Para a realização desta estimativa da prevalência da doença no mundo, foi usado um estudo de consenso chamado Delphi, que reuniu 12 peritos internacionais. Este estudo baseia-se num método de avaliação qualitativo e por isso não avalia o potencial impacto de novas intervenções nos cuidados de saúde (Brookmeyer, Johnson, Ziegler-Graham, & Arrighi, 2007).

Quanto à prevalência em relação ao sexo, calcula-se que o sexo feminino seja mais afetado que o sexo masculino. Sendo a idade o maior fator de risco nesta doença, as mulheres são mais afetadas porque têm uma esperança média de vida superior à dos homens (Association, 2016).

Em relação a Portugal em indivíduos com mais de 80 anos, cerca de 64% têm demência. Em 2013 previa-se que numa população com mais de 60 anos, cerca de 160287 indivíduos tinham demência e destes, numa proporção de 50-70%, a DA seria a principal doença causadora de demência no nosso país (Santana et al., 2015).

1.3 Epigenética

A palavra epigenética inicialmente começou a ser usada para descrever acontecimentos que não eram explicados através de princípios genéticos. A epigenética é definida, por Conrad Waddington (1942), como “uma área da biologia que estuda as interações entre genes e os seus produtos, o que leva ao início do fenótipo” (Goldberg, Allis, & Bernstein, 2007).

A epigenética é caracterizada pela estabilidade com que um fenótipo é transmitido hereditariamente quando este sofre alterações no cromossoma sem que sofra alterações na sequência de ADN (Berger et al., 2009).

Estas duas definições complementares demonstram de que forma a epigenética influencia as interações dentro do próprio corpo humano e se relaciona com os fatores externos que são capazes de alterar o fenótipo de um indivíduo.

Propôs-se a existência de três sinais importantes na transmissão epigenética que são, o “Epigenator”, o “Epigenetic Initiator” e o “Epigenetic Maintainer”. O primeiro engloba tudo o que acontece no meio ambiente da célula capaz de modificar o trajeto intracelular do fenótipo epigenético levando ao “Epigenetic Initiator”. Este traduz o sinal enviado do “Epigenator”, do qual se obtém a localização do meio ambiente e se encontra a cromatina epigenética, este “Initiator” pode ser uma proteína ligante do ADN, o RNA não codificante ou outra estrutura que consiga agregar a cromatina. Este segundo sinal continua em ação em conjunto com o terceiro, “Epigenetic Maintainer”. Este terceiro e último sinal, que inclui processos como a metilação do ADN, a modificação de histonas e o posicionamento do nucleossoma, mantém a cromatina epigenética mas não é suficiente para a iniciar (Berger et al., 2009).

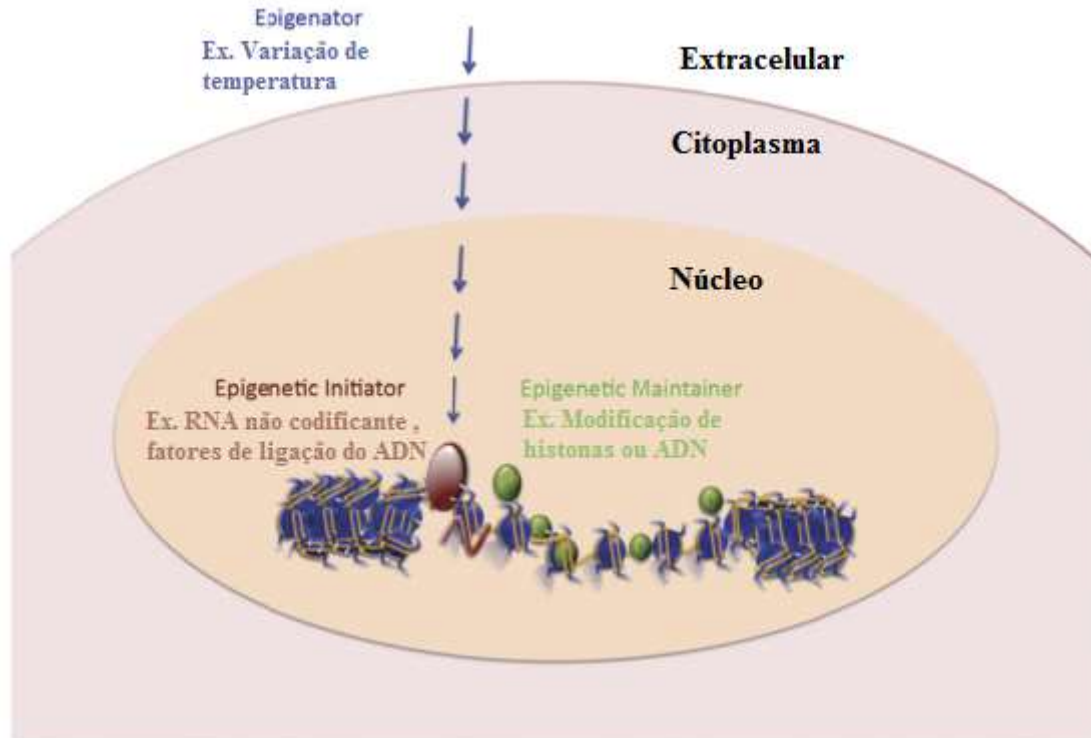


Figura 2. Via de transmissão do sinal epigenético (Retirado e adaptado de Berger et al., 2009).

A epigenética pode interferir com o fenótipo através de vários mecanismos. Os dois mecanismos principais centram-se na interferência do mecanismo biológico levando à doença (figura 3) ou servindo como biomarcador da doença ou da exposição ambiental (figura 4).

A interferência dos fatores epigenéticos no mecanismo biológico é causada em grande parte por dois processos: a metilação do ADN e a modificação de histonas. A metilação do ADN tem um papel muito importante na regulação genética assim como na agregação da cromatina, na medida em que esta metilação ocorre nos resíduos de citoquinas de dinucleótidos que se correlaciona com a diminuição transcripcional (Goldberg et al., 2007).

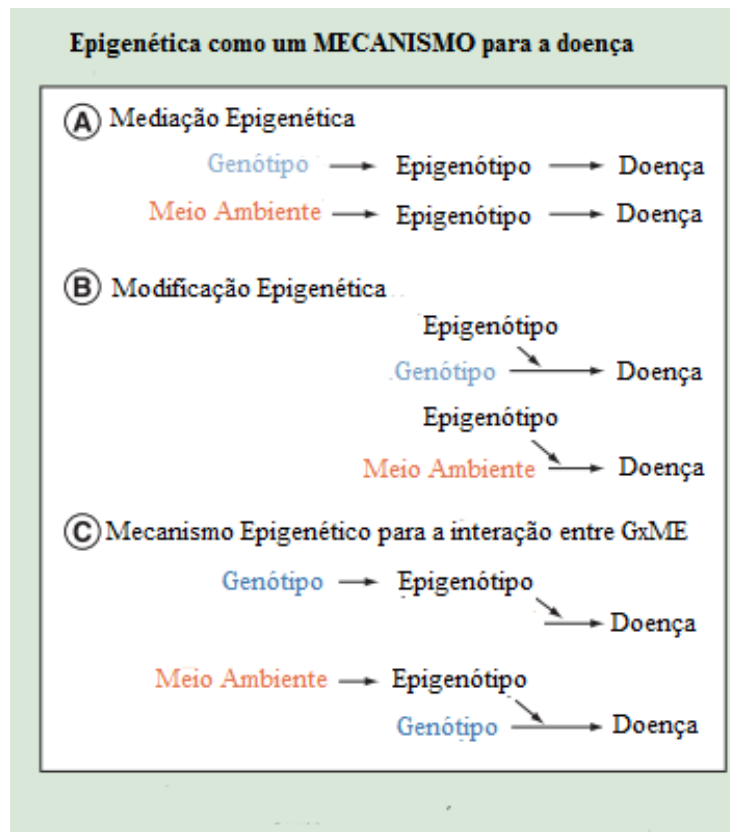


Figura 3. A epigenética como um mecanismo na etiologia da doença (Retirado de Ladd-acosta & Fallin, 2016).

A epigenética pode ser também utilizada como biomarcador da exposição ambiental, uma vez que fornece uma medição da exposição do indivíduo usada como ferramenta para estudos epidemiológicos. A medição epigenética reflete uma exposição anterior ao ambiente com boa sensibilidade e especificidade, determinada através de padrões da metilação do ADN (Ladd-acosta & Fallin, 2016).

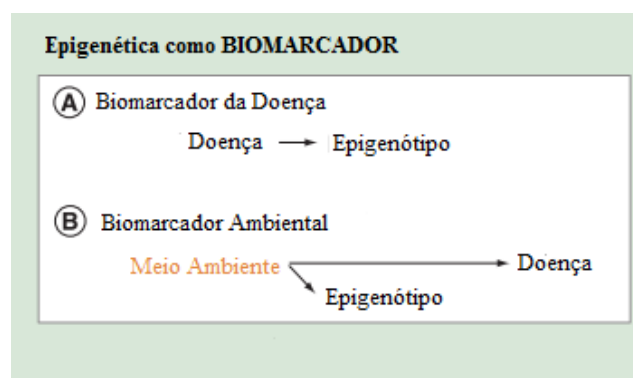


Figura 4. A Epigenética como Biomarcador (Retirado de Ladd-acosta & Fallin, 2016).

A epigenética como fator importante na modificação intracelular é recente e veio acrescentar novos conceitos e perspectivas na área da neurociência. A compreensão dos mecanismos básicos das funções cerebrais e da transmissão hereditária ao longo de gerações é a chave da evolução (Gr & Mansuy, 2008).

1.4 Objetivos do trabalho

Este tema de dissertação foi escolhido com o objetivo de compreender melhor a Doença de Alzheimer, o mecanismo de ação e tratamento envolvidos na doença.

Com o surgimento de uma nova perspectiva, a Epigenética, que combina os fatores genéticos e ambientais, pretende-se avaliar o quanto esta área influencia a DA, tanto no seu aparecimento e desenvolvimento como na sua resolução e possíveis tratamentos.

Esta dissertação combina o historial médico do indivíduo e a Epigenética como um só mecanismo, de forma a compreender em que medida é que a Epigenética influencia esta doença, sendo que consegue analisar vários fatores de risco em conjunto e não cada um como individual para esta doença.

É de realçar que esta área em relação à doença é relativamente nova e existe ainda alguma falta de consenso entre autores, como a DA é uma doença sem cura e com mecanismos de ação variados, não se sabe de que maneira a Epigenética tem influência na doença, se positiva ou negativa.

O principal objetivo nesta dissertação é então compreender que papel é que esta nova vertente tem na doença, assim como nos fármacos utilizados para a doença.

2. Metodologia

Foram consultadas as bases de dados **b-on**, **pubmed**, **scielo**, **UptoDate** e **The New England Medical Journal** utilizando os seguintes critérios:

Chaves de pesquisa:

Alzheimer's Disease [TI]; Epigenetics [TI]; Alzheimer AND epigenetics; Alzheimer's disease AND "methylation of DNA"; Alzheimer's disease AND "APOE"; Alzheimer's disease AND causes; Alzheimer's disease AND diagnosis; Alzheimer's disease AND treatment; Alzheimer's disease AND Portugal; Epigenetic AND treatment in Alzheimer's disease; Epigenetic AND pharmacology; Epigenetic AND mechanisms; Genetics of Alzheimer's disease; Genetics AND Alzheimer's disease.

Crítérios de inclusão:

Todos os artigos disponíveis entre os anos 2004-2016 com as chaves de pesquisa acima mencionadas que se incluíssem no corpo do texto, no título ou no resumo. Apenas foram selecionados os artigos escritos em língua portuguesa ou inglesa.

Crítérios de exclusão:

Todos os artigos não disponíveis nas bases de dados acima mencionadas e que após solicitação ao autor correspondente não foram enviados.

A pesquisa bibliográfica foi realizada entre 15 de Junho de 2015 e 1 de Setembro de 2015.

Uma nova pesquisa foi realizada entre 31 de Novembro de 2015 e 12 de Outubro de 2016.

3. Diferenças entre Alzheimer de início tardio e Alzheimer de início precoce

Como já foi anteriormente referido, a DA pode ter duas formas, o Alzheimer de início tardio e o Alzheimer de início precoce. As duas formas diferem a nível dos mecanismos moleculares subjacentes à doença, nas zonas do cérebro afetadas e a nível das idades em que ocorrem.

A maioria dos estudos clínicos sobre esta doença incide em indivíduos com idades superiores a 65 anos, idade a partir da qual a DA é mais frequente. Desta forma, as manifestações neurológicas e psicológicas da DA tardio encontram-se mais bem definidas e são mais fáceis de identificar. O menor número de casos e consequentemente de estudos sobre o Alzheimer de início precoce, tornam esta forma mais difícil de diagnosticar e com maior probabilidade de erro em comparação com o Alzheimer de início tardio. Com isto torna-se imperativo criar uma avaliação mais cuidada para esta forma da doença, visto que com um início mais precoce a doença pode ter um impacto maior na qualidade de vida. Um diagnóstico mais precoce também permite a possibilidade de prevenir e evitar uma progressão mais rápida da doença (McMurtray, Clark, Christine, & Mendez, 2006). Ambas as formas da DA apresentam afetações nas mesmas áreas neurofisiológicas iniciais. As grandes diferenças estão nos fenótipos que estas apresentam, sendo que a idade do início da doença é importante na determinação da heterogeneidade fenotípica. As diferenças são notórias em termos de progressão da doença entre uma e outra forma, assim como na prevalência do alelo $\epsilon 4$ da apoE (Sá et al., 2012).

As causas para o aparecimento do Alzheimer de início precoce focam-se principalmente em indivíduos com uma mutação autossomal dominante que pode ocorrer em um de três genes: o gene precursor da proteína da β -amilóide no cromossoma 21 (21q21.3), o gene da presenilina-1 no cromossoma 14 (14q24.2) e o gene da presenilina-2 no cromossoma 1 (1q42.13). As causas do aparecimento do Alzheimer de início tardio centram-se principalmente no aumento da agregação e acumulação de placas de $A\beta$ e na existência do alelo $\epsilon 4$ da apoE. Estas duas causas relacionam-se uma com a outra, uma vez que a apoE é responsável por regular a agregação de $A\beta$ (Jack, Holtzman, & Ad, 2013).

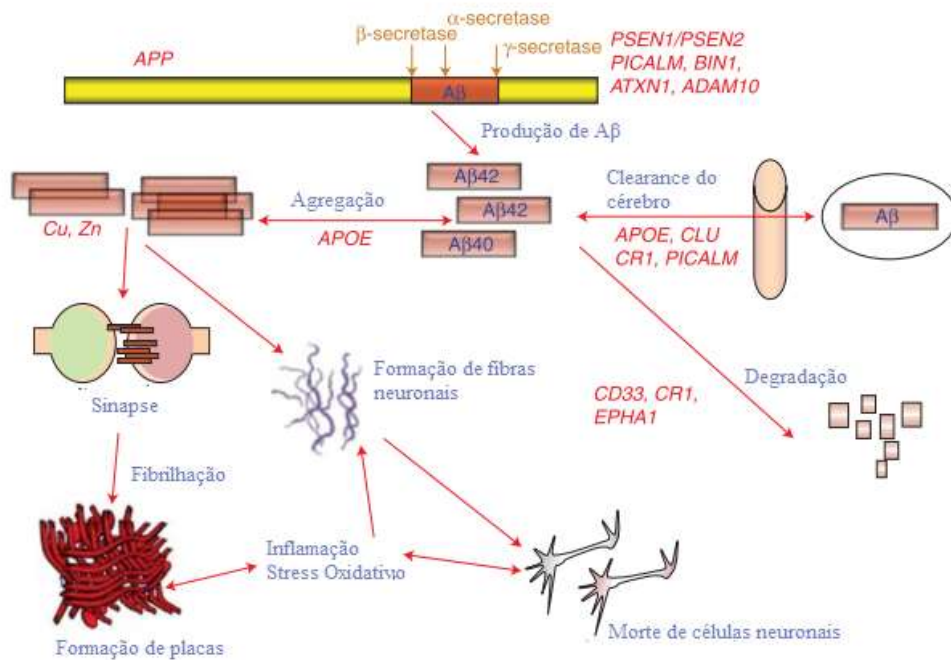


Figura 5. Mecanismos pelos quais ocorrem as alterações na DA (Retirado de Tanzi, 2012).

Na forma de DA precoce a história familiar, ou seja, a componente genética é bastante importante e constitui o maior fator de risco para o surgimento da doença. Em indivíduos com primeiro grau de parentesco com um doente de Alzheimer a probabilidade de desenvolver a doença é mais do dobro em relação à população em geral. Esta forma de Alzheimer representa menos de 1% em relação a todos os casos de DA, sendo caracterizado como uma doença de transmissão Mendeliana. No caso da DA de início tardio a transmissão da doença tem um carácter não-Mendeliano, ou seja não é afetada pela genética, não sendo transmitida à descendência dos indivíduos com a doença (Chouraki & Seshadri, 2014).

Outra grande diferença entre as duas formas de Alzheimer é que na de início tardio, a patologia encontra-se mais espalhada pelo cérebro, principalmente no lobo médio temporal, relativamente à de início precoce. Além disso a progressão da doença também é diferente em ambas as formas, na de início precoce, as mudanças neuropatológicas afetam principalmente as áreas posterior e frontal do cérebro, enquanto na DA de início tardio apresentam alterações neuropatológicas no lobo médio temporal (Flier, Pijnenburg, Fox, & Scheltens, 2011).

Um dos biomarcadores utilizados para detecção da presença da doença é a quantificação dos níveis do líquido cefalorraquidiano (LCR), utilizado para ambas as formas da DA. O LCR é considerado um biomarcador por fornecer informação sobre a concentração da proteína 42 da A β (A β ₁₋₄₂), que no caso da DA encontra-se em baixa concentração. Este biomarcador deteta também a concentração da proteína tau e da tau fosforilada (ptau). Os níveis tanto na DA precoce como na DA tardio são semelhantes, isto indica que a idade não tem influência nos níveis de concentração das proteínas no LCR (Bouwman et al., 2009).

Tabela 1. Diferenças entre Alzheimer tardio e Alzheimer precoce (Retirado de Flier, Pijnenburg, Fox, & Scheltens, 2011).

	DA início tardio	DA de início precoce
Características	Memória	Genético
Efeito da doença	Menos agressivo	Mais agressivo
Idade de início	Média de 75 anos	Média de 55 anos
Genótipo de APOE	Presença de 1 ou 2 alelos ϵ 4	Sem presença de alelos ϵ 4
Neuropatologia	Placas e fibras neurocelulares	Placas e fibras neurocelulares
Concentração de biomarcadores no LCR	Diminuição de A β e aumento de tau e ptau	Diminuição de A β e aumento de tau e ptau
PET		
FDG	Diminuição do metabolismo temporoparietal, especialmente no lobo médio temporal	Diminuição do metabolismo temporoparietal, especialmente no córtex posterior
RM	Atrofia no hipocampo	Atrofia temporoparietal, atrofia frontoparietal ou ambas

Em conclusão, as várias diferenças entre as duas formas de Alzheimer são principalmente em relação à idade de começo, à forma como se apresenta, à forma como progride e à causa associada ao seu aparecimento, assim como o mecanismo pela qual ocorre.

4. A Epigenética na Doença do Alzheimer

As alterações epigenéticas estão presentes desde a fase pré-natal de vida e as mudanças fenotípicas causadas por essas mesmas alterações estão relacionadas com o processo de envelhecimento. Similarmente, nas doenças neurodegenerativas, tal como a DA, o maior fator de risco é o envelhecimento. As alterações epigenéticas afetam o fenótipo mas não modificam a sequência de ADN, as principais alterações epigenéticas são a nível da metilação do ADN, modificação de histonas, modificação da cromatina e regulação do RNA não codificante (Y. Zhu, Feng, Liu, & Wu, 2015).

Para além disso a epigenética providencia uma maneira de integrar mecanismos de entrada diferentes e gerar os de saída mais longos e moldáveis, acabando desta forma por fornecer um substrato para a localização da memória e por combinar a hipótese de interação entre o gene e o ambiente neste tipo de doença (Sanchez-Mut & Gräff, 2015).

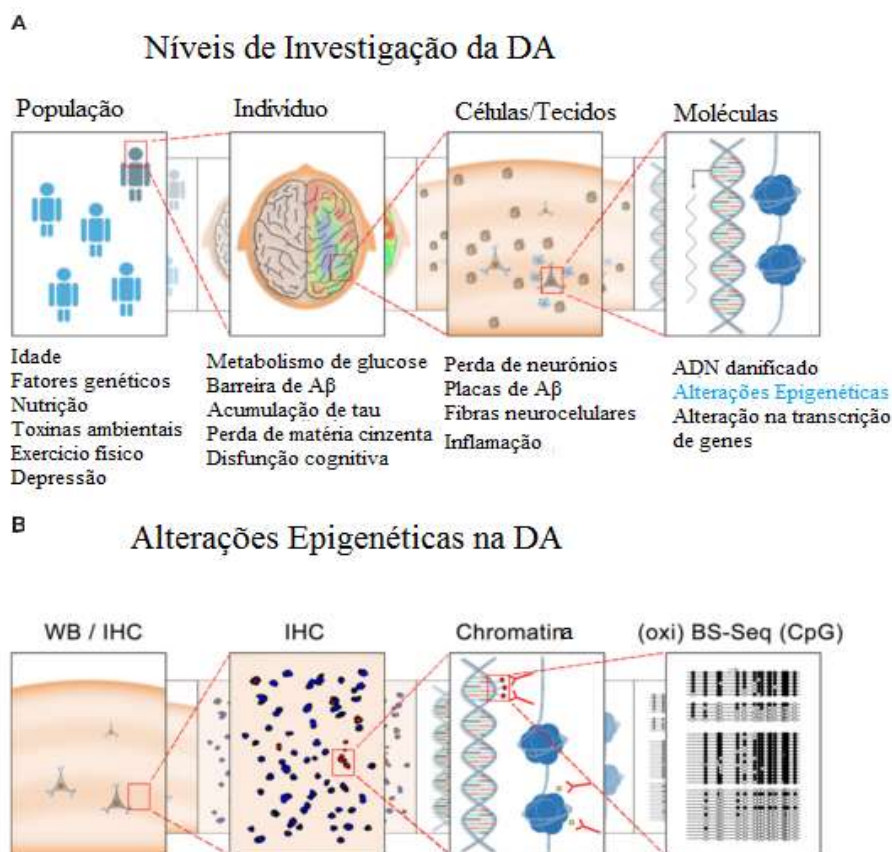


Figura 6. Investigação da DA vs Alterações epigenéticas na DA (Retirado e adaptado de Sanchez-Mut & Gräff, 2015).

A metilação do ADN é um processo que envolve a família das metiltransferases do ADN. Estas atuam catalisando a transferência de um grupo metil para as bases de citosina ou adenina de uma cadeia simples de ADN, usando uma S-adenosilmetionina como o fornecedor do grupo metil. Os padrões da metilação do ADN são estabelecidos pelos dinucleótidos CpG, que são pares de Citosina-fosfato-Guanina, no sentido 5' para 3' das cadeias. Entre os membros da família das metiltransferases as quatro mais conhecidas são a DNMT1, a DNMT2, a DNMT3A e a DNMT3B. Destas, a DNMT1 é a mais abundante nas células humanas e sem a presença desta enzima pode ocorrer a desorganização nuclear, o aumento da acetilação de histonas e a morte celular programada (apoptose) (Mastroeni et al., 2010).

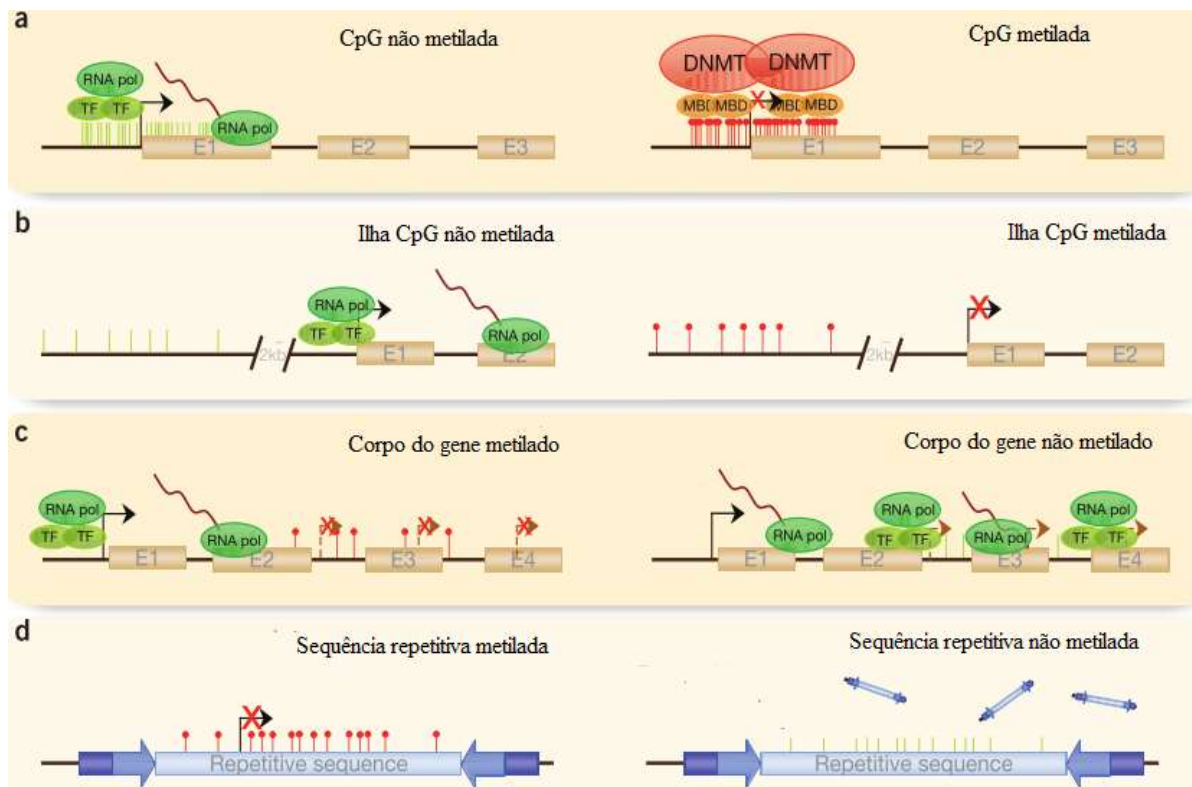


Figura 7. A metilação do ADN. Na coluna da esquerda estão representadas ilustrações do que seria normal de acontecer, na coluna da direita estão as alterações epigenéticas através da metilação do ADN. (a) metilação de ilhas CpG em genes promotores, (b) metilação de ilhas CpG em genes promotores mas com margem de 2kb, (c) metilação no corpo do gene, (d) metilação de seqüências de genes repetitivas (Retirado e adaptado de Portela & Esteller, 2010).

A modificação de histonas leva a uma mudança no procedimento de organização da cromatina. A cromatina é um complexo de proteínas nucleares que se ligam ao ADN genómico formando assim o nucleossoma, que é a unidade básica da cromatina. O nucleossoma é composto por dois complexos exatamente iguais que têm na sua constituição 146 pares de bases de ADN enroladas à volta de um octâmero de proteínas histonas, cada octâmero possui 4 proteínas histonas, sendo elas a H2A, a H2B, a H3 e a H4 (Dolinoy, Weidman, & Jirtle, 2007). Esta modificação de histonas normalmente é pós- transcricional e pode ocorrer por vários processos, como por exemplo, acetilação, metilação, fosforilação e ubiquitinação (Portela & Esteller, 2010).

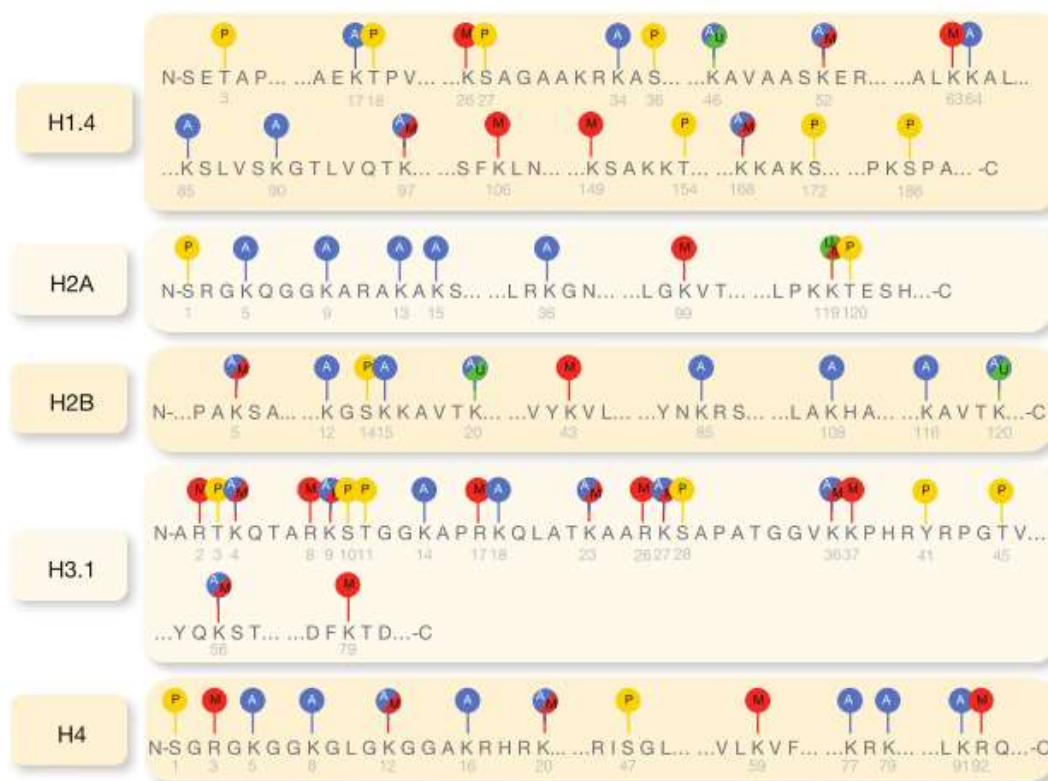


Figura 8. Os diferentes processos de modificação de histonas. Acetilação (azul), Metilação (vermelho), Fosforilação (amarelo) e Ubiquitinação (verde) (Retirado e adaptado de Portela & Esteller, 2010).

Os reguladores da cromatina são responsáveis pela modificação de histonas, isto porque assim são capazes de ajustar as estruturas e funções da cromatina, tendo como produto final do seu processo uma modificação da cromatina. Uma heterocromatina estável, neste caso é importante para manter a integridade do genoma. Os complexos de cromatina dependentes do ATP (adenosina trifosfato) utilizam a hidrólise deste substrato para

mover, destabilizar, ejetar ou reestruturar o nucleossoma, facilitando assim o acesso dos fatores de transcrição ao ADN (Cacabelos & Torrellas, 2015). Existem quatro famílias para estes complexos de cromatina. Estas partilham cinco propriedades básicas em comum, designadamente: (1) Afinidade para o nucleossoma em adição à afinidade existente ao próprio DNA; (2) presença de domínios que reconhecem as modificações covalentes das histonas; (3) presença de um domínio ATPase dependente de ligação ao ADN, o qual é necessário para quebrar ligações ADN-Histona; (4) presença de proteínas reguladoras da ATPase, anteriormente mencionada e finalmente (5) a presença de domínios capazes de interagir com outros fatores de polimerização e factores de transcrição (Segal & Widom, 2010).

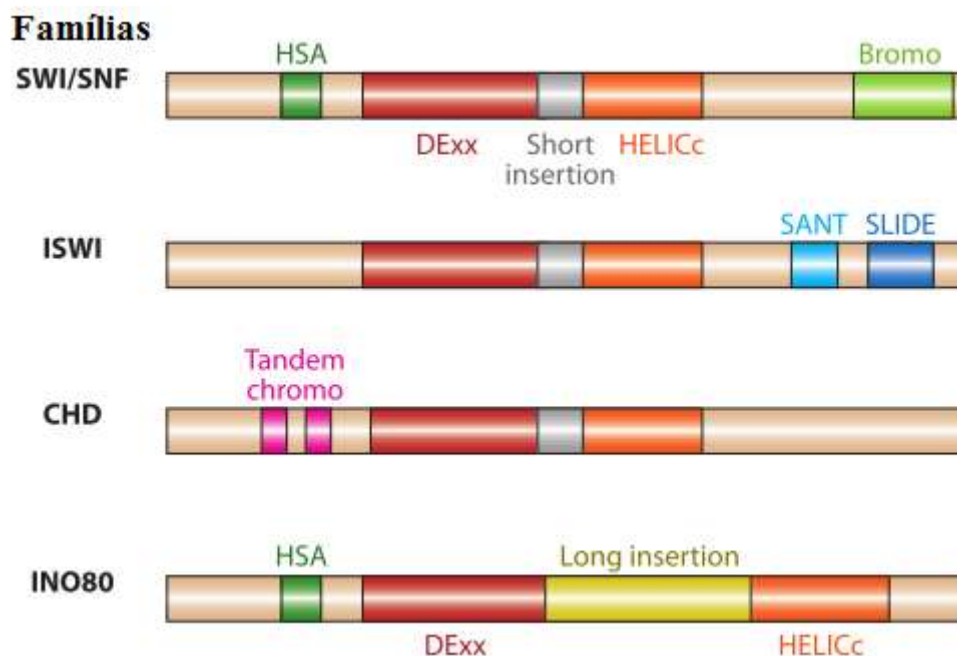


Figura 9. As quatro famílias definidas pelo seu domínio de ATPase (Retirado e adaptado de Clapier & Cairns, 2009).

O RNA não codificante pode ser diferenciado em duas categorias consoante o seu tamanho, desta forma se na sua constituição existirem menos de 200 nucleótidos, esta categoria é a de RNAs pequenos, que inclui RNA de transferência (tRNA), RNA ribossómico (rRNA), ambos estruturais e RNA nuclear pequeno (snRNA), assim como os RNAs regulatórios, onde se destacam os microRNAs (miRNA). Por outro lado se na sua constituição existirem mais de 200 nucleótidos, esta categoria é a de RNAs longos, estando presente em mais de 8000 loci no genoma humano. O genoma eucariota é

transcrito em RNA não codificante numa proporção de mais de 95%, sendo que menos de 5% é traduzido. A regulação epigenética deste tipo de RNA depende da sua interação com proteínas ou estruturas de DNA genómico (Cacabelos & Torrellas, 2015). Os mecanismos epigenéticos alteram a forma como atua o RNA não codificante nos processos de desenvolvimento e diferenciação, uma vez que são capazes de silenciar RNAs, dando assim origem a um equilíbrio entre rRNAs ativos e inativos. Este processo é importante por permitir que as diferentes cópias do gene de rRNA sejam alteradas (Mastroeni et al., 2011).

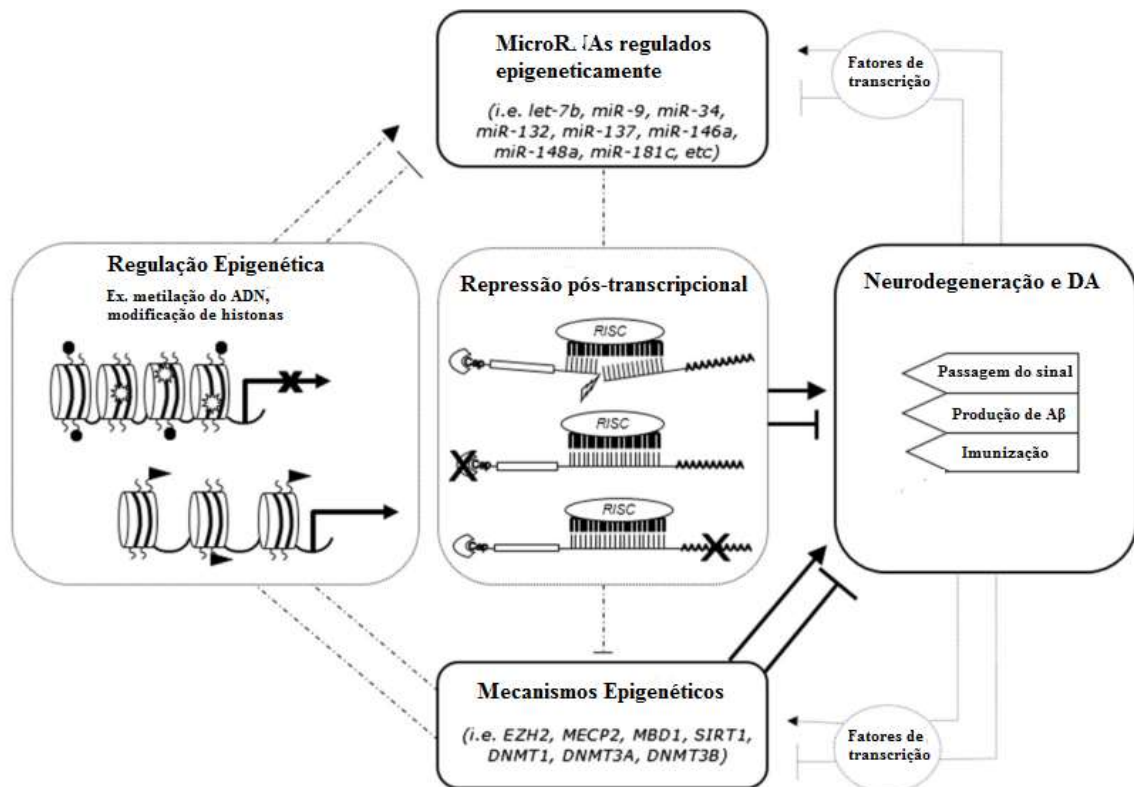


Figura 10. A influência dos microRNAs na DA (Retirado e adaptado de D. L. Van den Hove et al., 2014).

4.1 Implicações

Esta nova vertente da genética tem um grande impacto na DA, impacto este que se verifica na regulação da expressão génica quando existe um estímulo ambiental exterior que afeta o sistema nervoso central. São vários os estímulos ambientais que podem dar origem a alterações epigenéticas que levam ao surgimento e desenvolvimento da DA. Estes estímulos podem ser relativos ao grau de escolaridade do indivíduo afetado, à exposição a substâncias tóxicas ou a metais pesados (cobre, chumbo, alumínio), à quantidade de colesterol ingerida pelo indivíduo e a prática, ou não, de exercício físico. Estudos recentes sugerem que estes estímulos e eventuais alterações epigenéticas são causas possíveis para o desenvolvimento da DA de início tardio, uma vez que essa forma da doença não tem nenhuma causa genética e por isso as alterações acima descritas podem ter uma grande influência a nível dos mecanismos pelos quais surge a DA (Maloney, Sambamurti, Zawia, & Lahiri, 2012).

A exposição a fatores ambientais no início da vida de um indivíduo pode ajudar a determinar a propensão que esse mesmo indivíduo tem para vir a desenvolver uma determinada doença. Os efeitos da exposição podem permanecer latentes durante toda a vida sem se manifestarem. Contudo, no caso de surgir uma causa exterior mais tarde, esta induz mudanças no organismo conducentes à doença (Zawia, Lahiri, & Cardozo-Pelaez, 2009).

O modelo LEARN (The Latent Early-Life Regulation, isto em português significa: Regulação do Início de Vida Latente) é utilizado para demonstrar de que maneira é que as mudanças epigenéticas, induzidas pelo ambiente em genes relacionados com a DA, são capazes de levar à DA de início tardio. Este modelo propõe que a DA é um resultado de várias mudanças que alteram a vida de um indivíduo. Mudanças estas que podem incluir um fator de risco genético, como a presença do alelo $\epsilon 4$ da apoE, combinado com um estímulo do meio ambiente. Podendo ser uma exposição a substâncias tóxicas ou uma mudança no comportamento do indivíduo, a nível emocional, a nível físico ou a nível alimentar. Esse estímulo tem que ocorrer nos primeiros meses de vida, antes do desenvolvimento completo da barreira hematoencefálica. Para além disso este modelo testa as mudanças que possam acontecer através de três hipóteses. A primeira implica que os locais alvo em regiões de regulação de genes sejam sensíveis a alterações epigenéticas, a segunda baseia-se em momentos determinantes para a exposição ambiental, ou seja um momento da vida de um indivíduo em que este esteja mais fragilizado. Por fim a terceira

hipótese é a da alteração de marcadores epigenéticos por influência de fatores ambientais (Maloney et al., 2012).

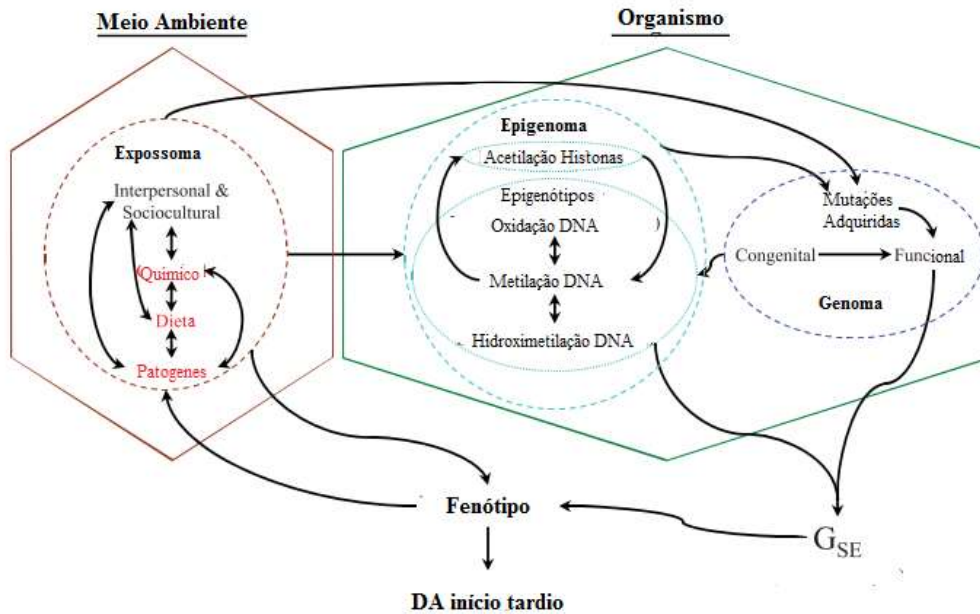


Figura 11. Etologia da Doença de Alzheimer. Representada a interação entre o meio ambiente (à esquerda) e o organismo (à direita) (Retirado de Maloney et al., 2012).

4.2 Mecanismo de Ação

As alterações epigenéticas são observadas a nível fisiológico e patológico e interferem com a normal expressão dos genes. No caso da metilação do ADN, os estudos quanto ao seu papel na regulação dinâmica da atividade e função neuronal só surgiram em 2003 por Bredy e colegas. Os dois mecanismos de ação mais estudados a nível da epigenética são os mecanismos em que ocorre a metilação do ADN e a modificação de histonas (Mastroeni et al., 2011).

A metilação do ADN pode afetar vários mecanismos dentro do organismo, afetando principalmente os genes promotores e tendo um impacto repressivo na transcrição dos genes. Este mecanismo epigenético depende do ciclo folato-metionina-homocisteína, desta forma um défice nos níveis de folato é diretamente relacionado com a DA. Estas alterações no gene promotor, causadas pela metilação do ADN, são notórias tanto no hipocampo como no córtex de indivíduos com DA, causando um envelhecimento mais rápido. Relacionando esta alteração com a DA, uma hipometilação do ADN leva a uma maior acumulação de placas de A β e produção de APP, podendo por sua vez causar

neuroinflamação. Por outro lado uma hipermetilação do ADN pode interferir com a plasticidade sináptica (Millan, 2014). O mecanismo de ação neste caso ocorre consoante a idade. Indivíduos com mais de 70 anos apresentam uma desmetilação na região do gene promotor de APP. Isto leva a uma expressão exacerbada do gene e por conseguinte a uma formação excessiva de A β , causando um decréscimo na sua clearance e um aumento da sua acumulação (Y. Zhu et al., 2015). A proteína tau também é afetada por este mecanismo epigenético, na DA quando a ação das metiltransferases é inibida, ocorre uma hipometilação da proteína fosfatase 2A, sendo esta capaz de desfosforilar a tau. Ao ser hipometilada neste mecanismo pela inibição da ação das metiltransferases, a sua ação na proteína tau não é efetuada levando assim à sua hiperfosforilação e como consequência à formação das fibras neurocelulares (Wang, Yu, Tan, Jiang, & Tan, 2013).

Tabela 2. As diferentes alterações causadas pela metilação do ADN (Retirado e adaptado de Wang, Yu, Tan, Jiang, & Tan, 2013).

Gene	Função	Estado de metilação	Nível de expressão
Promotor região gene MTHFR	Converte 5,10-MTHF para 5-MTHF	Hipermetilação	-
APP	Proteína Precursora de amiloide	Hipometilação	Alta
A β	Componente principal das placas senis	-	Alta
PS1	Componente γ -secretase	Hipometilação	Alta
Tau	tau hipermetilada leva à formação de fibras neurocelulares	Hipermetilação/Hipometilação (depende do local de ligação)	Baixa
PP2A	Enzima que é capaz de desfosforilar a tau fosforilada	Hipometilação	-
APOE ϵ 4	Fator de risco para a DA de início tardio	Hipermetilação	-

A modificação de histonas é outro mecanismo epigenético, mais uma vez usado para controlar a expressão dos genes. As modificações que podem ocorrer nas histonas são metilações, acetilações ou outras alterações pós-transcricionais. Na DA a alteração mais comum são acetilações ou fosforilações das histonas (Portela & Esteller, 2010).

A metilação de histonas é mais complicada de ocorrer e depende do local de ligação da proteína na transcrição, por exemplo quando é utilizada a proteína H3 ligada a um complexo de Lisina na posição 4 (H3Lisina4) o processo de transcrição é aumentado. Quando é utilizada uma proteína H3 ligada a um complexo de Lisina na posição 9, o processo de transcrição é inibido (Mastroeni et al., 2011). A acetilação de histonas é um processo reversível e necessita de um equilíbrio dinâmico entre duas enzimas principais que atuam no processo: as acetiltransferases (HATs) e as desacetilases (HDACs). As HATs atuam na transcrição do genoma em zonas específicas, acetilando resíduos de lisina, enquanto que as desacetilases removem os grupos acetil, levando ao silenciamento de genes. Na DA a acetilação de histonas no córtex temporal está diminuída, existindo também uma diminuição da acetilação da H3, esta diminuição leva a uma redução da expressão do regulador da atividade pós-sináptica (Millan, 2014). A H3 é um marcador de silenciamento de genes e regulador na compactação da cromatina, os níveis de histonas fosforiladas encontram-se aumentados em indivíduos com DA, afetando a distribuição da tau fosforilada. A modificação de histonas está também relacionada com o processo de hidrólise da APP em A β e na transcrição de genes reguladores da acetilação das histonas. O domínio C-terminal intracelular é também afetado e forma um complexo com a proteína Fe65 (AICD-Fe65). Este complexo induz a sobreexpressão de Fe65, promovendo a formação de A β , dando assim origem à formação e acumulação de placas de A β (Y. Zhu et al., 2015).

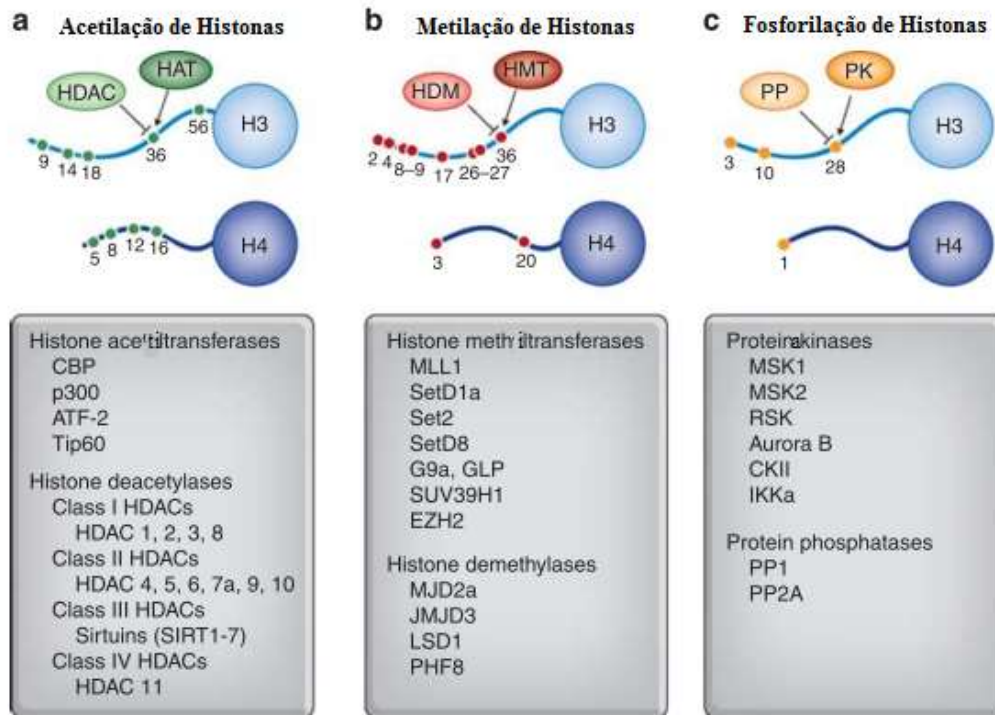


Figura 12. Modificação de histonas (Retirado e adaptado de Day & Sweatt, 2012).

Relativamente ao RNA não codificante, especificamente ao miRNA, existem cerca de 2000 classes presentes no cérebro, cada classe de miRNA pode reconhecer e controlar vários mRNA alvo (Millan, 2014). A APP é um alvo do miRNA e regula diretamente o mRNA da APP. A classe miRNA-106b pode influenciar o metabolismo de A β através de dois mecanismos diferentes, ou regulando diretamente a APP ou modelando o trajeto da APP, da clearance de A β e atividade da β e γ - secretase, por regulação do transportador A1 da cassette de ligação de ATP. Isto pode levar mais uma vez à acumulação de A β (Wang et al., 2013).



Figura 13. Mecanismos epigenéticos na Doença de Alzheimer (Retirado de Wang et al., 2013).

4.3 Consequências

As modificações epigenéticas são uma das causas da doença de Alzheimer podendo, no entanto, ser utilizadas no seu tratamento. Em ambos os casos as alterações epigenéticas alteram o modo como é regulada a função e expressão de genes. Contudo, estas modificações propiciam mais facilmente o desenvolvimento da DA do que eventuais diminuições da progressão desta doença.

Os mecanismos epigenéticos regulam a expressão dos genes por modificações covalentes no ADN e das suas proteínas, não alterando a sequência de ADN. Estas modificações são importantes por modelar a plasticidade sináptica e interferirem na aprendizagem e memória. A A β afeta a metilação do ADN em vários genes e a sua produção excessiva, induzida por variações genéticas, envelhecimento ou exposições ambientais. Dessa forma pode levar a hipometilação noutros locais de risco para a DA aumentando assim a disposição epigenética para a DA (D. La van den Hove, Kenis, & Rutten, 2014).

O desenvolvimento desta nova área da genética na DA parece trazer alguns avanços a nível do tratamento desta doença. São vários os estudos que apontam a epigenética como uma área de intervenção terapêutica. A interindividualidade relativamente à resposta a fármacos é uma dessas áreas (Cacabelos & Torrellas, 2015).

Como a epigenética é uma área relativamente recente, a possibilidade de novas terapêuticas encontra-se ainda numa fase emergente. As alterações epigenéticas são também reversíveis e por essa razão podem trazer novas perspectivas de terapêutica (Kwok, 2010).

Na DA as alterações epigenéticas, que propenciam esta doença, são transmitidas aos descendentes, tornando-se estes mais suscetíveis ao desenvolvimento precoce da doença. Para além disto, as diferentes células têm diferentes padrões de metilação, tendo como consequência um diagnóstico mais difícil para a DA. É importante referir que estas alterações são anteriores ao desenvolvimento da doença. Tal como outras doenças neurodegenerativas, as modificações fenotípicas conducentes à doença ocorrem muito antes do aparecimento dos primeiros sintomas (Lord & Cruchaga, 2014).

Em conclusão, os mecanismos epigenéticos são uma consequência de processos fisiopatológicos associados à DA, podendo ser também desencadeados por fatores de risco externos, como a exposição ao meio ambiente, e internos, como neuroinflamação ou stress oxidativo (Millan, 2014).

5. Terapêuticas na Doença de Alzheimer

Um tratamento para uma doença só pode existir, caso haja um diagnóstico prévio e o mais detalhado possível. Isto acontece para todas as doenças, sendo que o diagnóstico funciona como uma confirmação da doença.

O problema na DA é simultaneamente de diagnóstico e de terapêutica, uma vez que se trata de uma doença degenerativa. No diagnóstico da DA evita-se utilizar técnicas invasivas, uma vez que o órgão afectado é o cérebro. Desta forma, recorre-se métodos de diagnóstico indirectos. Adicionalmente, é necessário identificar o tipo da DA. Em termos de diagnóstico, este é mais fácil de obter na DA de início tardio do que na DA de início precoce. O diagnóstico clínico da DA é fundamental visto que cada vez mais existem terapêuticas inovadoras para esta doença (Gay, Taylor, Hohl, Tolnay, & Staehelin, 2008). Para além da alteração génica, o diagnóstico mais correto é feito através do exame histológico de amostras de tecidos afetado. Este exame é feito através de biopsias. Contudo, no caso da DA este método é contra-indicado por causa do elevado risco que este exame acarreta. O maior objetivo do diagnóstico é determinar o grau de afeções histopatológicas na DA que levam à demência (Beach, Monsell, Phillips, & Kukull, 2012).

O diagnóstico para a DA não é 100% fiável até análise do cérebro após a morte de um indivíduo afetado. O tempo de vida para uma pessoa diagnosticada com a DA é menos de 7 anos. Um diagnóstico precoce é fundamental para diminuir a velocidade de progressão dos sintomas e para aumentar a qualidade de vida de alguém afetado com a doença. Presentemente o diagnóstico da DA baseia-se em testes psicológicos. Estes testes só confirmam a presença da DA numa fase avançada da doença. A doença é caracterizada por ter três estadios, o primeiro é um estadio pré-clínico onde se verificam alterações no sangue, no cérebro e no LCR, mas ainda sem sintomas. Este estadio pode acontecer 20 anos antes dos sintomas aparecerem. O segundo estadio é onde ocorre uma mudança cognitiva leve, caracterizada por esquecimentos sem que afetem a vida normal do indivíduo. O terceiro e último estadio é o desenvolvimento da demência por DA, neste estadio a memória e cognição já se encontram notoriamente diminuídas, afectando a vida normal do indivíduo (Alberdi, Aztiria, & Basarab, 2016).

Desta forma para um diagnóstico precoce da DA é necessário detetar os mais pequenos sintomas, independentemente da idade do indivíduo em questão. Só assim será possível existir uma abordagem terapêutica precoce para a doença.

As doenças neurodegenerativas são, aparentemente sem excepção, patologias sem cura. A DA é uma dessas doenças e as terapêuticas têm como objectivo retardar fases mais avançadas da doença e aliviar sintomas. O tratamento da DA tem como objetivos a terapêutica específica, a terapêutica profilática, o tratamento sintomático e a terapêutica complementar. Estas terapêuticas são utilizadas com o propósito de permitir a indivíduos afetados uma qualidade de vida o mais normal quanto possível (Forlenza, 2005).

Nesta doença a atividade cerebral mais afetada é a colinérgica, com o passar do tempo o número de neurónio colinérgicos diminuí e perdem-se também receptores nicotínicos. Estes receptores são responsáveis pela libertação de neurotransmissores (NTs), que estão envolvidos nos processos de memória e humor, como a acetilcolina (ACh), o glutamato, a serotonina e a noradrenalina. O tratamento que existe para a DA é apenas sintomático, não sendo capaz de alterar o desenvolvimento da doença (Cazarim, Moriguti, Ogunjimi, & Pereira, 2016).

Na terapêutica da DA existem duas classes de fármacos com o objetivo de amenizar a sintomatologia e a progressão da doença. Estas classes interferem com a neurotransmissão colinérgica, classe dos inibidores da acetilcolinesterase (iAChE), ou com o glutamato, classe dos antagonistas do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) (Ferreira & Massano, 2013).

5.1 Fármacos Disponíveis

A acetilcolina (ACh) é um dos principais neurotransmissores que atua no cérebro, existindo dois receptores para este NT, os colinérgicos e os muscarínicos. A classe dos inibidores da acetilcolinesterase tem como fármacos a tacrina, o donepezilo, a galantamina e a rivastigmina. O glutamato é outro neurotransmissor que atua no cérebro e leva ao desenvolvimento da DA. A classe dos antagonistas do recetor de NMDA tem apenas como fármaco a memantina. Podem existir outros fármacos que atuam juntamente com aqueles que são específicos para a DA, estes fármacos ajudam a controlar sintomas como ansiedade ou depressão num indivíduo com a doença. Um dos fármacos usados neste caso é a sertralina, que ajuda na depressão. Para a ansiedade podem ser administradas as benzodiazepinas, que têm um efeito sedativo (Chiba, 2013).

A classe iAChE bloqueia a acetilcolinesterase impedindo-a de fazer a hidrólise de acetilcolina, induzindo um aumento da quantidade deste NT na fenda sináptica, melhorando a transmissão colinérgica. Esta classe de fármacos é simultaneamente capaz de aumentar a expressão dos receptores nicotínicos da Ach, é mediadora do processamento da APP e atenua a toxicidade induzida pela acumulação de A β (Herrmann, Chau, Kircanski, & Lanctôt, 2011).

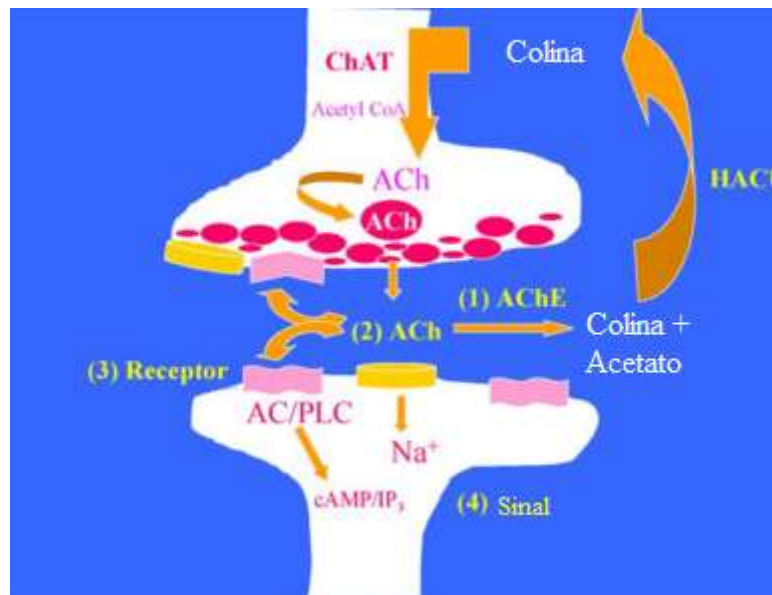


Figura 14. Sinapse colinérgica (Retirado e adaptado de Pope, Karanth, & Liu, 2005).

Começando agora pelos fármacos que pertencem à classe acima referida, a tacrina foi o primeiro fármaco a ser experimentado com sucesso em seres humanos (1993), este fármaco é um inibidor reversível da acetilcolinesterase. O maior inconveniente deste fármaco é a sua elevada toxicidade. Esta ocorre através de duas maneiras principais, hepatotoxicidade química e efeitos adversos dose-dependentes. Mais de 50% dos casos de toxicidade são devido aos efeitos adversos dose-dependentes. 30 a 50% dos casos devem-se à hepatotoxicidade. Por este motivo a tacrina deixou de ser tão utilizada como tratamento da DA, uma vez que necessitava de monitorização da função hepática (Inouye & Oliveira, 2004).

A elevada toxicidade fez emergir fármacos de segunda geração. Os fármacos desta mesma classe mas de segunda geração são o donepezil, a rivastigmina e a galantamina. Esta classe está aprovada para o tratamento da DA moderada a grave. O donepezilo foi o segundo fármaco aprovado para o tratamento da DA (1996), é um inibidor reversível e não competitivo da acetilcolinesterase e é seletivo para a mesma. Comparando as doses

de donepezilo administradas, a de 5mg tem melhor eficácia-tolerância que a de 10 mg, uma vez que são menos frequentes os efeitos secundários em indivíduos com uma dose de 5 mg. Contudo, este é um fármaco bem tolerado pelo organismo e não altera a função hepática (Hansen et al., 2008).

A rivastigmina foi o segundo fármaco desta classe a ser aprovado para o tratamento desta doença (1998). Esta tem uma reversibilidade lenta, sendo então considerada como um inibidor pseudo-irreversível da AChE e não é seletiva. Este fármaco inibe não só a acetilcolinesterase, mas também a butilcolinesterase. Uma das vantagens da rivastigmina é que não sofre metabolização pela família dos citocromos P450, como tal não existe risco de hepatotoxicidade. Este fármaco como não tem uma grande afinidade para as proteínas plasmáticas, também não apresenta interações relevantes com outros fármacos. Este fármaco apresenta um efeito que é dose-dependente, ou seja, quanto maior a dose administrada a um indivíduo, sem exceder a dose máxima, terá mais efeitos a nível global em relação à DA (Herrmann et al., 2011).

O último fármaco desta classe a ser aprovado foi a galantamina, aprovada em 2001. Esta é caracterizado como um alcalóide terciário e um inibidor seletivo e reversível da acetilcolinesterase. Este fármaco tem a vantagem de ter um mecanismo duplo de acção, único, o de inibidor da AChE e o de modelador alostérico dos recetores nicotínicos de acetilcolina. A dose administrada de galantamina inicial é de 4 mg duas vezes ao dia, podendo ser aumentada até 12 mg duas vezes ao dia. No caso de indivíduos que tenham problemas renais ou hepáticos, a dose deverá ser ajustada, não ultrapassando os 16 mg por dia (Thompson, Lanctôt, & Herrmann, 2004).

Tabela 3. Comparação entre os fármacos da classe de iAChE (Retirado e adaptado de Forlenza, 2005).

	Tacrina	Donepezil	Rivastigmina	Galantamina
Disponível no ano	1993	1997	1998	2001
Classe química	Acridina	Piperidina	Carbamato	Alcalóide fenantreno
Seletividade cerebral	Não	Sim	Sim	Sim
Tipo de inibição da colinesterase	Reversível	Reversível	Pseudo-irreversível	Reversível
Modulação alostérica de receptor nicotínico	Não	Não	Não	Sim
Enzimas inibidas ¹	AChE BuChE	AChE	AChE BuChE	AChE

¹ AChE: acetil-colinesterase; BuChE: butiril-colinesterase.

A outra classe para o tratamento da DA é a classe dos antagonistas do recetor NMDA e tem como único fármaco integrante desta classe a memantina. Este fármaco é usado principalmente nos casos de DA moderado a grave. A memantina atua essencialmente no mecanismo de neurotransmissão glutamatérgica (Forlenza, 2005). O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório no cérebro, estando associado principalmente à zona da memória e funções cognitivas. O que acontece na DA é um excesso da atividade do recetor NMDA devido à libertação aumentada de glutamato, levando à entrada de iões de cálcio em grande quantidade na célula, criando assim uma excitotoxicidade (Silvestrelli, Lanari, Parnetti, Tomassoni, & Amenta, 2006). A memantina foi aprovada oficialmente em 2003 como tratamento para a DA. O mecanismo de ação da memantina é reduzir a entrada excessiva de iões de cálcio, através do bloqueio do recetor NMDA, diminuindo assim a concentração de glutamato na sinapse, impedindo assim a morte da célula por excitotoxicidade (Costa & Moura, 2013).

O objetivo da utilização da memantina é fazer com que a progressão da doença seja mais lenta, assim como todos os outros fármacos usados no tratamento desta doença. Como não há ainda uma cura para a DA, os fármacos que são usados na doença servem apenas para impedir a morte celular e perdas repentinas da cognição e memória, fazendo com que exista uma maior qualidade de vida para indivíduos com a DA (Herrmann et al., 2011).

5.2 A Influência da Epigenética no Tratamento

Para a DA os tratamentos existentes nos últimos vinte e cinco anos têm sido os fármacos que acima foram mencionados. O único objetivo da utilização destes fármacos na DA é para tentar retardar a sua progressão. Para o mesmo efeito já foram também efetuados estudos mas usando estratégias diferentes, focando-se essencialmente em fármacos que modificam a doença, ou seja, fármacos que atrasam a progressão ou as lesões estruturais (Torrellas, 2014).

São vários os mecanismos alvo destes fármacos, como a redução da produção de A β , prevenir a agregação de A β , promover a clearance de A β ou mecanismos envolvendo a tau. Na redução da produção de A β foram utilizados fármacos que inibiam ou modelavam a expressão da β -secretase e da γ -secretase, estas estão envolvidas no mecanismo de clivagem da APP. Na prevenção da agregação de A β foram usados fármacos que inibiam a oligomerização de A β , ao ser inibida a oligomerização de A β , esta não se acumulava e

não dava origem a neurotoxicidade, uma característica que leva ao desenvolvimento da DA. Na promoção da clearance de A β , este é um dos mecanismos que continua em estudos, sendo usada a imunoterapia. Isto ocorre através da vacinação que promove a formação de anticorpos contra A β patogénica, este método é estudado e validado desde 1999. Por fim temos as estratégias que envolvem a proteína tau, sendo que o mecanismo inibido é a fosforilação da tau ou a sua agregação (Salomone, Caraci, Leggio, Fedotova, & Drago, 2012).

Tabela 4. Desenvolvimento clínico dos fármacos em estudo para a DA (Retirado e adaptado de Salomone et al., 2012).

Fármaco	Mecanismo de ação relevante para a DA	Fase do estudo	Resultado do estudo
Rosiglitazone	Inibição da β -secretase (?)	3	Ineficaz
Semagacestat	Inibição da γ -secretase	3	Fim prematuro
Tarenflurbil	Inibição da γ -secretase	3	Ineficaz
Tramiprosate	Inibição da oligomerização de A β	3	Ineficaz
Scyllo-inositol	Inibição da oligomerização de A β	2	Ineficaz
Bapineuzumab	Clearance de A β	3	A decórrer
Solaneuzumab	Clearance de A β	3	A decórrer
Lithium	Inibição da fosforilação da tau	2	Melhoria clínica na diminuição da ptau no LCR
Methylthioninium chloride	Inibição da agregação da tau	2	Melhoria clínica com dose de 16mg por dia
Nilvadipine	Clearance de A β	Aberto	Melhoria clínica

Estes estudos não tiveram sucesso na fase 3 dos ensaios clínicos, uma vez que demonstravam efeitos adversos graves e sem grandes efeitos benéficos. Para além disto, o tempo que os ensaios demoravam era superior ao tempo que a doença demora a evoluir. Por estas razões têm vindo a ser estudada a hipótese da utilização de terapia epigenética para o tratamento da DA. As duas classes que estão a ser mais desenvolvidas clinicamente são as classes dos inibidores das DNMT e inibidores das HDACs. Estas classes são usadas com o objetivo de reverter as alterações epigenéticas que modificam a expressão dos genes (Peedicayil, 2012).

Os inibidores das DNMT atuam diminuindo a hipermetilação do ADN, em conjunto com o tratamento farmacológico já existente para a DA. Os únicos fármacos desta classe aprovados são os análogos dos nucleosídeos, decitabina e azacitidina. A introdução destes fármacos no RNA vai causar o desmembramento do ribossoma, a função do tRNA e a inibição da síntese de proteínas. Desta forma a transmissão da informação genética é modificada (Torrellas, 2014).

A terapia mais desenvolvida é a que envolve a classe dos inibidores das HDACs. Estas enzimas na sua função normal são responsáveis pela acetilação das histonas, quando estão inibidas regulam o nível de acetilação e melhoram a capacidade de memória e aprendizagem de um indivíduo. Na DA esta classe afeta a atividade da proteína A β e da tau (Adwan & Zawia, 2013).

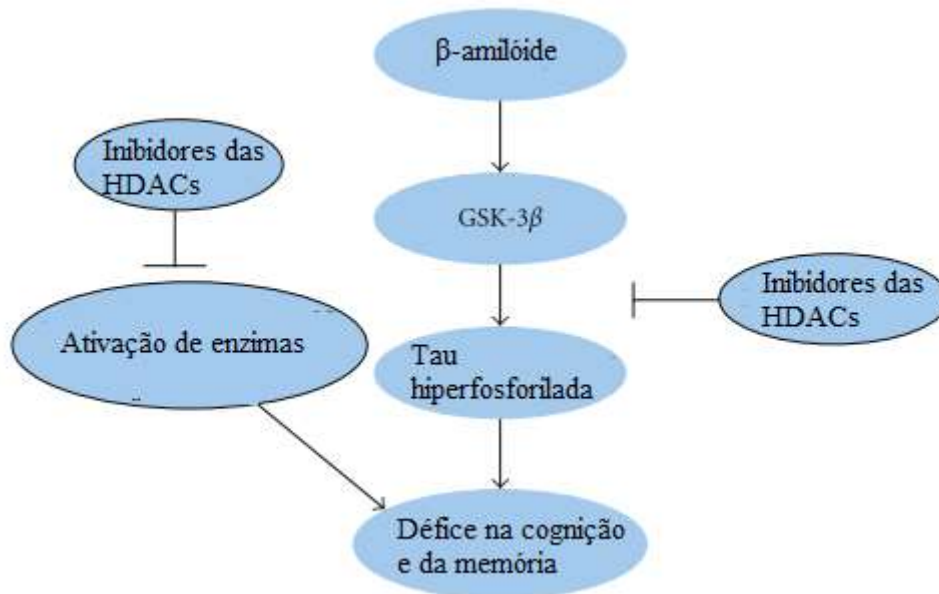


Figura 15. Inibidores das HDACs na DA (Retirado e adaptado de Xu, Dai, Huang, & Jiang, 2011)

Estes inibidores diminuem a regulação das HDAC, sendo constituídos por quatro famílias diferentes. A família I destes inibidores faz com que exista uma diminuição da plasticidade sináptica, do número de sinapses e da formação de memória. A família II destes inibidores inclui a HDAC6, esta na DA está bastante aumentada e é responsável pela catálise de proteínas não histonas. A inibição desta leva a uma proteção contra o stress oxidativo, que se pensa que é uma das causas da DA. A família III é fundamentalmente constituída por complexos dependentes do NAD⁺, estes complexos atuam no citoplasma das células diminuindo a produção de A β e a sua deposição em placas. Existe ainda a família IV, mas não é tão estudado o seu mecanismo nesta doença como as outras famílias (Xu et al., 2011).

Todas as teorias acima descritas são apenas experimentais e potenciais vias de desenvolver uma inibição seletiva para a patologia da DA. Tendo vias como a da inibição da hiperfosforilação da tau, inibindo a A β ou regulando a expressão de genes que estão

presentes nos mecanismos de aprendizagem e memória. Aqui ainda não é claro quais são os subtipos dos inibidores das HDACs associados à DA (Day & Sweatt, 2012).

6. Outras Abordagens

Já foram abordados alguns mecanismos que contribuem para o desenvolvimento da DA. Para além desses, existem outros mecanismos que também podem levar ao desenvolvimento da DA.

Na DA sabe-se que a formação de placas de β -amilóide contribuí para o seu desenvolvimento. Além deste fator pensa-se que o stress oxidativo também afete a doença. O cérebro só representa 2-3% da massa total do corpo mas consome cerca de 20% do oxigénio fornecido. Na DA o metabolismo cerebral encontra-se diminuído e a atividade dos complexos enzimáticos específicos da mitocôndria também (Butterfield, Reed, Newman, & Sultana, 2007).

O stress oxidativo promove alterações moleculares conducentes a distúrbios metabólicos. Estas alterações são mediadas através da interação de vias de sinalização, entre as quais estão as cascatas de proteína cinase ativada pelo stress (SAPK), que propagam sinais de stress desde a membrana até ao núcleo. O mecanismo pelo qual ocorre é gerado através da quelação de metais nas fibras amiloides, quando em presença de um ião sujeito à reações de oxidação-redução (Redox). Uma das moléculas capazes de interagir com este complexo é o peróxido de hidrogénio, por ser capaz de se difundir facilmente através das membranas. Quando esta molécula se encontra presente no citoplasma reage com o ião presente nas fibras amiloides e forma um radical hidróxido. Isto leva a lesões oxidativas nas células neuronais, podendo mesmo levar a morte neuronal. Por outro lado, esta interação ativa a ação de vias de SAPK, como a indução de enzimas antioxidantes ou fosforilação da tau, com o objetivo de proteger as células neuronais destas lesões oxidativas (Zhu et al., 2004).

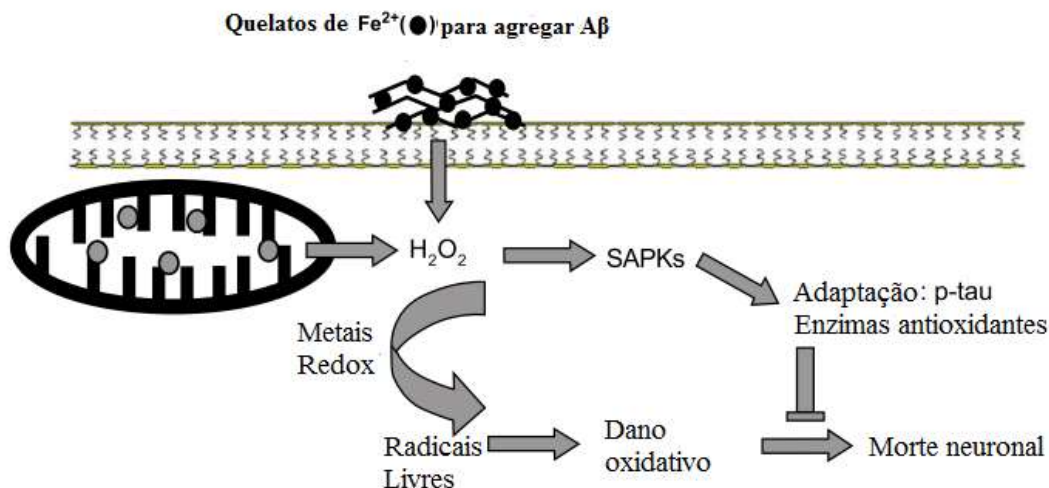


Figura 16. Mecanismo pelo qual ocorre o stress oxidativo (Retirado e adaptado de Zhu et al., 2004).

A neuroinflamação pode também contribuir para o desenvolvimento DA. Esta hipótese começa com um estímulo inflamatório inicial. Este estímulo pode ser devido a uma infeção recente ou uma lesão cerebral, que ativa as células inflamatórias do SNC. Em indivíduos com DA a produção excessiva de Aβ e de tau hiperfosforilada comprometem o sistema imunitário. As células do sistema imunitário que combatem infeções e inflamações dentro do organismo falham na tentativa de eliminar o excesso de Aβ. Isto leva a uma produção excessiva de células pró-inflamatórias, o que por sua vez dá origem a lesões celulares (Minter, Taylor, & Crack, 2016).

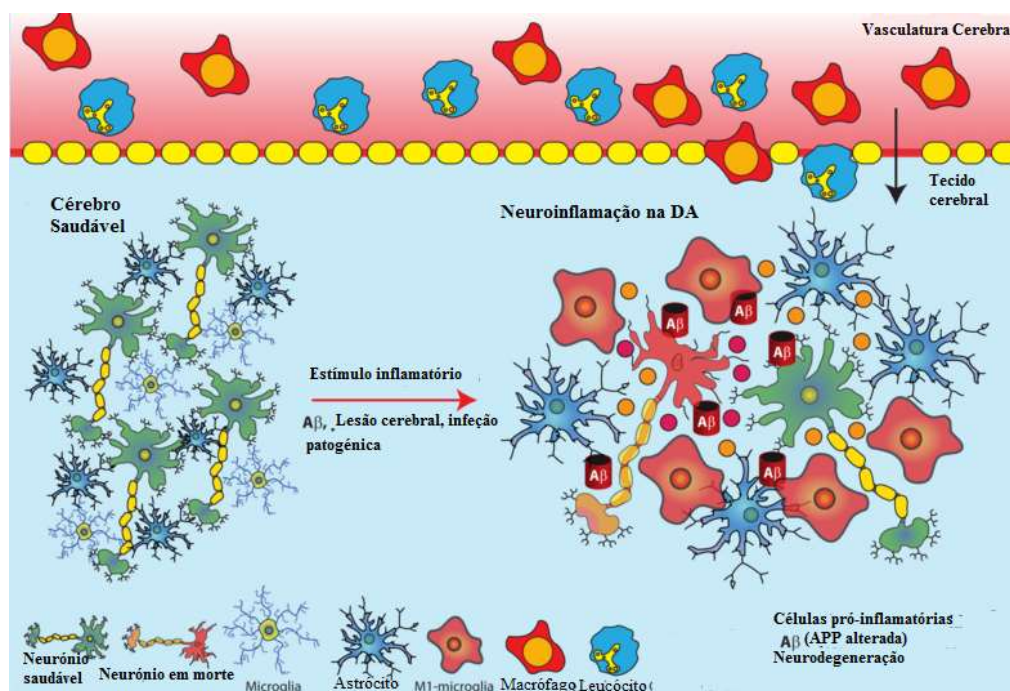


Figura 17. Processo de neuroinflamação na DA (Retirado e adaptado de Minter, Taylor, & Crack, 2016).

O consumo de cafeína parece ter uma contribuição positiva na DA. A cafeína é uma das substâncias psicoativa mais consumida mundialmente. É também um dos estimuladores principais do Sistema Nervoso Central (SNC), isto acontece através do antagonismo dos recetores de adenosina. Os agonistas do recetor de adenosina promovem a diminuição da atividade física de um indivíduo. Com isto pensa-se que a cafeína previne a morte cerebral (Barranco Quintana, Allam, Serrano Del Castillo, & Fernández-Crehuet Navajas, 2007). Um tema também discutido é a influência da dieta e exercício físico na DA. Em relação à dieta, sabe-se que o colesterol tem um grande impacto no mecanismo de ação pelo qual a DA ocorre, tanto a nível da apoE como da β -amilóide. Em relação ao exercício físico, quanto mais ativo for um indivíduo mais estimulado é o seu cérebro, esse é um fator fundamental e necessário para prevenir ou retardar a DA (McKenzie & Gray-Donald, 2009).

7. Conclusão

O tema abordado neste trabalho é relativamente recente, existindo alguma controvérsia quanto à influência da epigenética na doença de Alzheimer. Os mecanismos epigenéticos que aqui foram apresentados são os mais relevantes entre os capazes de desencadear uma modificação no fenótipo de um indivíduo. Estas modificações parecem contribuir para o aumento da suscetibilidade de um indivíduo ao desenvolvimento da doença.

Apesar de existirem diferentes propostas de mecanismos para a DA, todos eles culminam na formação e acumulação de placas de β -amilóide. Estas placas são a grande causa da DA, levando a uma cognição deficiente e dificuldades de aprendizagem e memorização por parte do indivíduo afetado pela doença. Em suma a DA pode ocorrer de duas formas diferentes, a de início tardio e a de início precoce. Quer numa, quer noutra a epigenética tem sempre influência. A maior influência é na DA de início tardio, uma vez que os vários estímulos ambientais e comportamentais do indivíduo podem levar à doença. No caso da DA de início precoce a epigenética pode influenciar na transmissão da informação modificada à sua descendência, uma vez que caso um indivíduo sofra uma mutação epigenética essa será sempre transmitida.

Nem todas as mudanças epigenéticas são perniciosas, no caso do tratamento da DA as terapias epigenéticas favorecem um retardamento da doença e uma melhor qualidade de vida, em conjunto com os tratamentos farmacológicos já existentes. Adicionalmente, existem tentativas de aplicação desta área ao diagnóstico da DA, uma vez que se trata de uma doença que afeta o cérebro e o diagnóstico precoce é difícil. Por essa razão esta doença só é detetada em fases mais avançadas, através da perceção dos sintomas relacionados com a doença. O diagnóstico existente, para além do pós-morte, é só efetuado através de exames histológicos e de exames comportamentais e de memorização. A grande prospeção futura para esta doença é a descoberta de uma cura eficaz, não um tratamento que retarde sintomas ou dê a um indivíduo afetado uma melhor qualidade de vida. Isso é também importante, mas com a dimensão que esta doença tem no meio das demências existentes e a taxa de mortalidade que esta doença acarreta é essencial uma cura eficaz.

Sendo uma área em desenvolvimento, a grande maioria dos trabalhos não são conclusivos e os modelos baseados nas experiências científicas incompletos. Tendo esta doença a complexidade que tem, não só a nível fisiológico mas também a nível físico, cada indivíduo tem formas de resposta e de desenvolvimento diferentes. Por esta razão é sempre difícil determinar com exatidão o que seria de esperar para esta doença.

Perante o exposto, é essencial que a investigação desta doença continue no âmbito de se encontrar uma cura e diminuir assim a taxa de mortalidade e a grande prevalência que esta doença tem na população idosa, essencialmente.

8. Bibliografia

- Adwan, L., & Zawia, N. H. (2013). Epigenetics: A novel therapeutic approach for the treatment of Alzheimer's disease. *Pharmacology and Therapeutics*, *139*(1), 41–50. <http://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.03.010>
- Alberdi, A., Aztiria, A., & Basarab, A. (2016). On the early diagnosis of Alzheimer's Disease from multimodal signals: A survey. *Artificial Intelligence in Medicine*, *71*, 1–29. <http://doi.org/10.1016/j.artmed.2016.06.003>
- Association, A. (2010). 2010 Alzheimer's disease facts and figures, *6*, 158–194. <http://doi.org/10.1016/j.jalz.2010.01.009>
- Association, A. (2016). 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, *12*(4), 459–509. <http://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.03.001>
- Ballatore, C., & Trojanowski, J. Q. (2007). Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders, (August). <http://doi.org/10.1038/nrn2194>
- Barranco Quintana, J. L., Allam, M. F., Serrano Del Castillo, A., & Fernández-Crehuet Navajas, R. (2007). Alzheimer's disease and coffee: a quantitative review. *Neurological Research*, *29*(1), 91–95. <http://doi.org/10.1179/174313206X152546>
- Beach, T. G., Monsell, S. E., Phillips, L. E., & Kukull, W. (2012). Accuracy of the clinical diagnosis of Alzheimer disease at National Institute on Aging Alzheimer Disease Centers, 2005-2010. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, *71*(4), 266–273. <http://doi.org/10.1097/NEN.0b013e31824b211b>
- Berger, S. L., Kouzarides, T., Shiekhatar, R., Berger, S. L., Kouzarides, T., Shiekhatar, R., & Shilatifard, A. (2009). An operational definition of epigenetics, 781–783. <http://doi.org/10.1101/gad.1787609>
- Bouwman, F. H., Schoonenboom, N. S. M., Verwey, N. A., Elk, E. J. Van, Kok, A., Blankenstein, M. A., ... Flier, W. M. Van Der. (2009). CSF biomarker levels in early and late onset Alzheimer's disease, *30*, 1895–1901. <http://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2008.02.007>
- Brookmeyer, R., Johnson, E., Ziegler-Graham, K., & Arrighi, H. M. (2007). Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia*, *3*(3), 186–191. <http://doi.org/10.1016/j.jalz.2007.04.381>
- Butterfield, D. A., Reed, T., Newman, S. F., & Sultana, R. (2007). Roles of amyloid beta-peptide-associated oxidative stress and brain protein modifications in the pathogenesis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Free Radical*

- Biology and Medicine*, 43(5), 658–677.
<http://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.05.037>
- Cacabelos, R., & Torrellas, C. (2015). Epigenetics of aging and alzheimer's disease: Implications for pharmacogenomics and drug response. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(12), 30483–30543. <http://doi.org/10.3390/ijms161226236>
- Cazarim, M. de S., Moriguti, J. C., Ogunjimi, A. T., & Pereira, L. R. L. (2016). Perspectives for treating Alzheimer's disease: a review on promising pharmacological substances. *Sao Paulo Medical Journal = Revista Paulista de Medicina*, 134(4), 342–354. <http://doi.org/10.1590/1516-3180.2015.01980112>
- Chiba, T. (2013). Emerging Therapeutic Strategies in Alzheimer ' s Disease. *Neurodegenerative Diseases*, (March 2013), 181–225. <http://doi.org/10.5772/55293>
- Chouraki, V., & Seshadri, S. (2014). *Genetics of Alzheimer ' s Disease. BS:ADGEN* (Vol. 87). Elsevier. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-800149-3.00005-6>
- Clapier, C. R., & Cairns, B. R. (2009). The biology of chromatin remodeling complexes. *Annual Review of Biochemistry*, 78, 273–304. <http://doi.org/10.1146/annurev.biochem.77.062706.153223>
- Costa, C. A. S. da, & Moura, R. M. B. L. de. (2013). Doença de Alzheimer: aspectos epidemiológicos da utilização da memantina no tratamento. *Revista Eletrônica de Biologia*, 6(2), 167–174.
- Cummings, J. L., Disorders, C., & As-, R. D. (2004). Alzheimer's Disease, 56–67.
- Day, J. J., & Sweatt, J. D. (2012). Epigenetic Treatments for Cognitive Impairments. *Neuropsychopharmacology*, 37(1), 247–260. <http://doi.org/10.1038/npp.2011.85>
- Dolinoy, D. C., Weidman, J. R., & Jirtle, R. L. (2007). Epigenetic gene regulation : Linking early developmental environment to adult disease, 23, 297–307. <http://doi.org/10.1016/j.reprotox.2006.08.012>
- Ferreira, S., & Massano, J. (2013). Terapêutica farmacológica na Doença de Alzheimer : progressos e esperanças futuras, 65–86.
- Flier, W. M. Van Der, Pijnenburg, Y. A. L., Fox, N. C., & Scheltens, P. (2011). Early-onset versus late-onset Alzheimer ' s disease : the case of the missing APOE ε4 allele. *The Lancet Neurology*, 10(3), 280–288. [http://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70306-9](http://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70306-9)
- Forlenza, O. V. (2005). Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer. *Revista de Psiquiatria Clínica*, 32(3), 137–148. <http://doi.org/10.1590/S0101-60832005000300006>

- Gay, B. E., Taylor, K. I., Hohl, U., Tolnay, M., & Staehelin, H. B. (2008). The validity of clinical diagnoses of dementia in a group of consecutively autopsied memory clinic patients. *Journal of Nutrition, Health and Aging*, *12*(2), 132–137. <http://doi.org/10.1007/BF02982566>
- Goldberg, A. D., Allis, C. D., & Bernstein, E. (2007). Essay Epigenetics : A Landscape Takes Shape, 635–638. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.006>
- Gr, J., & Mansuy, I. M. (2008). Epigenetic codes in cognition and behaviour, *192*, 70–87. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.01.021>
- Hansen, R. A., Gartlehner, G., Webb, A. P., Morgan, L. C., Moore, C. G., & Jonas, D. E. (2008). Efficacy and safety of donepezil, galantamine, and rivastigmine for the treatment of Alzheimer’s disease: A systematic review and meta-analysis. *Clinical Interventions in Aging*, *3*(2), 211–225. <http://doi.org/10.1002/gps>
- Hardy, J., & Selkoe, D. J. (2013). The Amyloid Hypothesis of Alzheimer ’ s Disease : Progress and Problems on the Road to Therapeutics, *353*(2002). <http://doi.org/10.1126/science.1072994>
- Herrmann, N., Chau, S. A., Kircanski, I., & Lanctôt, K. L. (2011). Current and emerging drug treatment options for alzheimers disease: A systematic review. *Drugs*, *71*(15), 2031–2065. <http://doi.org/10.2165/11595870-000000000-00000>
- Inouye, K., & Oliveira, G. H. D. E. (2004). Avaliação Crítica Do Tratamento Farmacológico. *Infarma*, *15*, 80–84. Retrieved from <http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/84/i08-alzheimer.pdf>
- Iqbal, K., Alonso, A. C., Chen, S., Chohan, M. O., El-akkad, E., Gong, C., ... Grundke-iqbal, I. (2005). Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies, *1739*, 198–210. <http://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.09.008>
- Jack, C. R., Holtzman, D. M., & Ad, L. (2013). Review Biomarker Modeling of Alzheimer ’ s Disease. *Neuron*, *80*(6), 1347–1358. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.12.003>
- Kwok, J. B. J. (2010). Role of epigenetics in Alzheimer ’ s and Parkinson ’ s disease R eview. *Epigenomics*, *1*, 671–682.
- Ladd-acosta, C., & Fallin, M. D. (2016). The role of epigenetics in genetic and environmental epidemiology, *8*, 271–283.
- Lord, J., & Cruchaga, C. (2014). The epigenetic landscape of Alzheimer’s disease. *Nature Neuroscience*, *17*(9), 1138–40. <http://doi.org/10.1038/nn.3792>
- Lucas, C. O., Freitas, C., & Monteiro, M. I. (2013). A Doença De Alzheimer:

- características, sintomas e intervenções. *Psicologia.pt*, 1(1), 1–15.
- Maloney, B., Sambamurti, K., Zawia, N., & Lahiri, D. K. (2012). Applying epigenetics to Alzheimer's disease via the latent early-life associated regulation (LEARn) model. *Curr Alzheimer Res*, 9(5), 589–599. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22300406>
- Mastroeni, D., Grover, A., Delvaux, E., Whiteside, C., Coleman, P. D., & Rogers, J. (2010). Epigenetic changes in Alzheimer's disease: Decrements in DNA methylation. *Neurobiology of Aging*, 31(12), 2025–2037. <http://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2008.12.005>
- Mastroeni, D., Grover, A., Delvaux, E., Whiteside, C., Coleman, P. D., & Rogers, J. (2011). Epigenetics Mechanisms in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 32(7), 1161–1180. <http://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.08.017>
- Mayeux, R., & Stern, Y. (2015). Epidemiology of Alzheimer Disease.
- McKenzie, D. S.-A., & Gray-Donald, K. (2009). Handbook of Clinical Nutrition and Aging. *Handbook of Clinical Nutrition and Aging, Second Edition*, (1), 373–402. <http://doi.org/10.1007/978-1-60327-385-5>
- Mcmurtray, A., Clark, D. G., Christine, D., & Mendez, M. F. (2006). Early-Onset Dementia : Frequency and Causes Compared to Late-Onset Dementia, 90073, 59–64. <http://doi.org/10.1159/000089546>
- Millan, M. J. (2014). The epigenetic dimension of Alzheimer's disease: Causal, consequence, or curiosity? *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 16(3), 373–393.
- Minter, M. R., Taylor, J. M., & Crack, P. J. (2016). The contribution of neuroinflammation to amyloid toxicity in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 136(3), 457–474. <http://doi.org/10.1111/jnc.13411>
- Ojopi, E. P. B., Bertoncini, A. B., & Dias Neto, E. (2004). Apolipoproteína E ea doença de Alzheimer. *Revista de Psiquiatria Clínica*, 31(1), 26–33.
- Peedicayil, J. (2012). Role of epigenetics in pharmacotherapy, psychotherapy and nutritional management of mental disorders. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 37(5), 499–501. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2710.2012.01346.x>
- Petersen, R. C., Smith, G. E., Ivnik, R. J., Tangalos, E. G., Schaid, D. J., Thibodeau, S. N., ... Kurland, L. T. (2015). Apolipoprotein E Status as a Predictor of the Development of Alzheimer's Disease in Memory-Impaired Individuals.
- Pope, C., Karanth, S., & Liu, J. (2005). Pharmacology and toxicology of cholinesterase inhibitors: Uses and misuses of a common mechanism of action. *Environmental*

- Toxicology and Pharmacology*, 19(3), 433–446.
<http://doi.org/10.1016/j.etap.2004.12.048>
- Portela, A., & Esteller, M. (2010). review Epigenetic modifications and human disease. *Nature Publishing Group*, 28(10), 1057–1068. <http://doi.org/10.1038/nbt.1685>
- Sá, F., Pinto, P., Cunha, C., Lemos, R., Letra, L., & Simões, M. (2012). Differences between early and late-onset Alzheimer ' s disease in neuropsychological tests, 3(May), 1–8. <http://doi.org/10.3389/fneur.2012.00081>
- Salomone, S., Caraci, F., Leggio, G. M., Fedotova, J., & Drago, F. (2012). New pharmacological strategies for treatment of Alzheimer's disease: Focus on disease modifying drugs. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 73(4), 504–517. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2011.04134.x>
- Sanchez-Mut, J. V., & Gräff, J. (2015). Epigenetic Alterations in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 9(December), 1–17. <http://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00347>
- Santana, I., Farinha, F., Freitas, S., Rodrigues, V., & Carvalho, Á. (2015). The Epidemiology of Dementia and Alzheimer Disease in Portugal: Estimations of Prevalence and Treatment-Costs. *Acta Médica Portuguesa*, 28(2), 182–188. Retrieved from <http://www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/view/6025>
- Segal, E., & Widom, J. (2010). What controls nucleosome positions?, 100(2), 130–134. <http://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.02.012>.Investigations
- Silvestrelli, G., Lanari, A., Parnetti, L., Tomassoni, D., & Amenta, F. (2006). Treatment of Alzheimer's disease: From pharmacology to a better understanding of disease pathophysiology. *Mechanisms of Ageing and Development*, 127(2), 148–157. <http://doi.org/10.1016/j.mad.2005.09.018>
- Sung, H. Y., Choi, E. N., Lyu, D., Mook-Jung, I., & Ahn, J. H. (2014). Amyloid beta-mediated epigenetic alteration of insulin-like growth factor binding protein 3 controls cell survival in Alzheimer's Disease. *PLoS ONE*, 9(6), 1–12. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0099047>
- Tanzi, R. E. (2012). The genetics of Alzheimer disease (7). *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(10), a006296–. <http://doi.org/10.1101/cshperspect.a006296>
- Thompson, S., Lanctôt, K. L., & Herrmann, N. (2004). The benefits and risks associated with cholinesterase inhibitor therapy in Alzheimer's disease. *Cmaj*, 3(5), 425–440.

- <http://doi.org/10.1517/14740338.3.5.425>
- Torrellas, C. (2014). Epigenetic drug discovery for Alzheimer ' s disease, 1–28.
- van den Hove, D. La, Kenis, G., & Rutten, B. P. (2014). Epigenetic dysregulation in Alzheimer's disease: cause or consequence? *Epigenomics*, 6(1), 9–11. <http://doi.org/10.2217/epi.13.84>
- Van den Hove, D. L., Kompotis, K., Lardenoije, R., Kenis, G., Mill, J., Steinbusch, H. W., ... Rutten, B. P. F. (2014). Epigenetically regulated microRNAs in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 35(4), 731–745. <http://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.10.082>
- Wang, J., Yu, J.-T., Tan, M.-S., Jiang, T., & Tan, L. (2013). Epigenetic mechanisms in Alzheimer's disease: implications for pathogenesis and therapy. *Ageing Research Reviews*, 12(4), 1024–41. <http://doi.org/10.1016/j.arr.2013.05.003>
- Xu, K., Dai, X. L., Huang, H. C., & Jiang, Z. F. (2011). Targeting HDACs: A promising therapy for Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2011. <http://doi.org/10.1155/2011/143269>
- Zawia, N. H., Lahiri, D. K., & Cardozo-Pelaez, F. (2009). Epigenetics, oxidative stress, and Alzheimer disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 46(9), 1241–1249. <http://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.02.006>
- Zhu, X., Raina, A. K., Lee, H. G., Casadesus, G., Smith, M. A., & Perry, G. (2004). Oxidative stress signalling in Alzheimer's disease. *Brain Research*, 1000(1-2), 32–39. <http://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.01.012>
- Zhu, Y., Feng, Y., Liu, T., & Wu, Y. (2015). Epigenetic Modification and Its Role in Alzheimer ' s Disease, 200080(100), 63–72. <http://doi.org/10.1159/000437329>