

COLESTEROL, APOE ϵ 4 E ESTATINAS: IMPLICAÇÕES NA DOENÇA DE ALZHEIMER

MELISSA CALEGARO NASSIFI¹

JULIANA HOPPE²

CHRISTIANNE GAZZANA SALBEGO³

1. Farmacêutica, mestranda em Ciências Biológicas - Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

2. Aluna do curso de Farmácia, bolsista Propesq - UFRGS.

3. Docente-Pesquisadora - Departamento de Bioquímica - UFRGS.

Laboratório de Neuroproteção e Sinalização Celular, Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Biológicas - UFRGS. Rua Ramiro Barcelos, 2600, Anexo - 90035-003, Porto Alegre (RS).

Autor Responsável: C.G. Salbego, E-mail: salbego@terra.com.br

INTRODUÇÃO

O crescimento da expectativa de vida média da população mundial tem sido acompanhado do aumento na prevalência de doenças neurodegenerativas, características do envelhecimento, como a doença de Parkinson, isquemia cerebral (popularmente chamada de derrame) e, especialmente, a Doença de Alzheimer. A Doença de Alzheimer (DA) atinge, atualmente, cerca de 15 milhões de pessoas acima dos 65 anos de idade, em todo o mundo, podendo triplicar o número de casos, até 2050 (FORMAN et al., 2004; PUGLIELLI et al., 2003).

A DA é uma desordem neurológica complexa que leva à demência, caracterizada por atrofia cerebral generalizada, declínio progressivo na função mental e na memória, e na deterioração intelectual do paciente. O processo da doença envolve a degeneração de sinapses e a morte de neurônios de regiões cerebrais fundamentais para a aprendizagem, memória e para o controle emocional (MATTSON & CHAN, 2003).

Múltiplos fatores genéticos e ambientais interagem no desenvolvimento da DA. Cerca de 1% a 2% dos casos está relacionada exclusivamente a fatores genéticos, como mutações em genes específicos, representando os casos de origem familiar. A maior parte dos casos de DA (90% a 95%) é de início tardio e está relacionada a diversos fatores de risco, como o avanço da idade, o sexo feminino, o baixo nível educacional, o tabagismo, polimorfismo da apolipoproteína E (APOE) e doenças graves, como diabetes mellitus, hipertensão e hipercolesterolemia (CASSELY & TOPOL, 2004; NAIDU, et al, 2002).

Dietas ricas em colesterol, bastante comum na sociedade ocidental, e doenças, como a hipercolesterolemia familiar, levam à perda da homeostase no metabolismo do colesterol, pré-dispondo o organismo a doenças cardiovasculares, como a aterosclerose (BAGHDASARIAN et al., 2004). Recentes estudos epidemiológicos sugerem uma forte ligação entre altos níveis de colesterol sanguíneo e a DA, em que o uso de drogas redutor de colesterol, especialmente as estatinas, diminuiu significativamente o risco de seu desenvolvimento (CASSELY & TOPOL, 2004; PUGLIELLI et al., 2003).

Apesar dos recentes progressos na compreensão do mecanismo de neurodegeneração na DA, ainda não existe nenhuma terapia totalmente eficaz (RANG et al, 2004). Entretanto, estudos realizados no decorrer da última década buscam esclarecer os mecanismos genéticos e moleculares específicos relacionados à DA, que abrem novas oportunidades terapêuticas e direcionam estratégias importantes de prevenção.

DOENÇA DE ALZHEIMER: principais características

A DA é uma desordem neurodegenerativa progressiva e irreversível, que leva à demência e foi primeiramente descrita

pelo médico alemão Alois Alzheimer (1864-1915), em 1907. Alois Alzheimer estudou o cérebro *pos mortem* de uma paciente de 51 anos de idade, observando um profundo “encolhimento” cerebral, uma morte neuronal massiva e alterações morfológicas características no tecido cerebral: as *placas senis*, constituídas principalmente de depósitos do peptídeo β -amilóide (conhecido como A β), extracelularmente; e os *emaranhados neurofibrilares intraneurais*, correspondendo a filamentos de uma forma fosforilada de uma proteína associada com microtúbulos (proteína tau) (HAMDANE et al., 2003; MATTSON, 2004; CASSELY & TOPOL, 2004).

PLACAS SENIS: peptídeo β amilóide e sua origem

As placas senis são alterações moleculares complexas e seu desenvolvimento temporal ainda permanece parcialmente compreendido. O principal componente das placas senis é o peptídeo β -amilóide (A β), que possui 40 ou 42 aminoácidos. O A β de 40 aminoácidos (A β 40) é produzido normalmente em pequenas quantidades, enquanto A β de 42 aminoácidos (A β 42) é produzido em excesso.

Ambos podem se agregar para formar placas amilóides, mas o A β 42 mostra uma maior tendência que o A β 40, sendo o principal responsável pela formação das placas (SELKOE & SCHENK, 2003). O peptídeo A β é produzido através da clivagem anormal da proteína precursora amilóide (APP, do inglês *amyloid precursor protein*). A APP é uma proteína transmembrana, cuja função fisiológica ainda é alvo de estudo. Evidências têm sugerido um importante papel na regulação da sobrevivência neuronal, crescimento neurítico, plasticidade sináptica e adesão celular (MATTSON & CHAN, 2003).

As proteases que clivam a APP são conhecidas como secretases. Na DA, a clivagem da APP está alterada, desviando o processo proteolítico normal, realizado pela enzima α -secretase (Figura 1) e aumentando a atividade da β -secretase, ou BACE (do inglês, *β -site APP-cliving enzyme*), enzima responsável pela secreção do peptídeo A β , sua deposição e toxicidade (LAFERLA, 2002). As causas do metabolismo alterado de APP e da deposição de A β ainda não estão completamente entendidas, mas podem incluir o aumento do estresse oxidativo relacionado ao envelhecimento, danos no metabolismo energético, perda da homeostase iônica celular e a possíveis mutações no gene de APP, BACE, PS (presinilinas) 1 e 2 (ST.GEORGE-HYSLOP & WESTAWAY, 1999; MATTSON, 2004). Estas mutações parecem estar relacionadas com a DA, especialmente a de origem familiar, aumentando a proporção de A β 42 em relação a A β 40.

A primeira mutação identificada está no gene da proteína precursora do amilóide (APP), localizado no cromossomo 21. O cromossomo 21 era visto como provável local das mutações causadoras da doença de Alzheimer por duas razões: 1) é o local do

gene APP; e 2) os sinais patológicos da doença se desenvolvem em idade bem mais baixa nas pessoas com síndrome de Down (trissomia do cromossomo 21) (CUMMINGS et al., 1998).

Existe ainda um gene de susceptibilidade, relacionado a grande parte de casos de DA de origem tardia (não-familiar): o gene que codifica a APOE, uma proteína transportadora de colesterol, uma vez que a expressão das proteínas anormais APO-Eε4 facilita a agregação do Aβ (RANG et al., 2004).

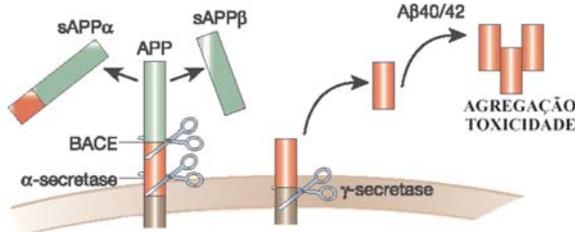


Figura 1. Na superfície celular, clivagem da proteína precursora amiloide (APP) formando sAPP-α através da ação de α-secretase. No processo anormal, APP é clivada primeiramente por BACE (ou β-secretase) e em seguida por γ-secretase, levando à secreção do peptídeo tóxico, Aβ, e o fragmento sAPPβ (Adaptada de MATTSON, 2004).

EMARANHADOS NEUROFIBRILARES: proteína tau

No cérebro de um adulto, a proteína tau é encontrada essencialmente em neurônios. Sua principal função é manter os monômeros de tubulina unidos, formando os microtúbulos (Figura 2), que modulam a organização funcional do neurônio, possuindo grande importância para a manutenção da sua forma estrutural (HANDAME et al., 2003).

Mas a polimerização dos microtúbulos depende do nível de fosforilação da proteína tau: quando *hiperfosforilada*, ela é menos efetiva em manter os microtúbulos unidos. Na DA, a proteína está anormalmente fosforilada, dessa forma, desprende-se dos microtúbulos, acumula-se no soma, forma filamentos intracelulares (emaranhados neurofibrilares), e leva à desestruturação do citoesqueleto celular (PHIEL et al., 2003).

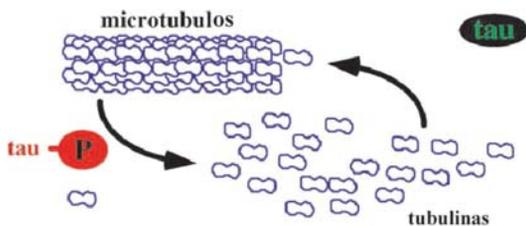


Figura 2. A polimerização de tubulinas em microtúbulos é regulada pela fosforilação da proteína tau. A tau *hipofosforilada* (tau, em verde) induz à polimerização das tubulinas e à estabilização dos microtúbulos, enquanto que tau *hiperfosforilada* (tau-P em vermelho) leva à desestabilização dos microtúbulos em tubulinas (Adaptado de HANDAME, 2003).

COLESTEROL: metabolismo cerebral e Doença de Alzheimer

O colesterol é um tipo essencial de lipídeo sintetizado no fígado, presente em todas as células do organismo. É constituinte básico das membranas plasmáticas, além de ser precursor de hormônios esteróides, como a progesterona, testosterona, estradiol e corticosteróides (NELSON & COX, 2004). O organismo é capaz de produzir todo o colesterol que necessita, mas uma dieta rica em gordura saturada, de origem vegetal (óleo de coco, óleo de dendê, manteiga de cacau) e, principalmente, de origem animal

(carnes, ovos e produtos lácteos), leva a um aumento arriscado de seus níveis sanguíneos.

O colesterol é transportado na circulação, através de diferentes tipos de lipoproteínas. As lipoproteínas consistem de um centro de lipídeo hidrofóbico envolvido por um revestimento mais hidrofílico de substâncias polares – fosfolipídeos, colesterol livre e apoproteínas associadas. Existem três grupos principais de lipoproteínas, que diferem na sua proporção relativa de lipídeos: (a) quilomícrons; (b) lipoproteínas de baixa densidade (LDL, *low density lipoproteins*), cuja apoproteína de maior importância é a B100, envolvida no transporte do colesterol exógeno para as células, e (c) lipoproteínas de alta densidade (HDL, *high density lipoproteins*) (RANG et al., 2004).

O espectro de lipoproteínas do líquido cefalorraquidiano (líquor) e do plasma é distinto, pois a barreira hemato-encefálica não permite sua livre passagem. O transporte do colesterol nas células do sistema nervoso central deve, portanto, seguir regras diferentes dos outros tecidos. As lipoproteínas do líquido não parecem ter um grande papel na transferência dos lipídeos *do e para* o cérebro e sim na redistribuição de colesterol entre as células cerebrais (SIMONS et al., 2001). A apoproteína E (APOE), ricamente presente nas lipoproteínas cerebrais, parece estar envolvida na transferência do colesterol das regiões ricas em colesterol para as regiões com pequenas quantidades de colesterol (LOCATELLI et al., 2002).

Estudos iniciais sugerem que o colesterol é sintetizado *in situ* no cérebro e apenas uma pequena quantidade é proveniente do plasma. A renovação cerebral pode ocorrer pela conversão de colesterol a cerebrosterol (24S-hidroxicolesterol), um composto que pode atravessar a barreira hemato-encefálica (LOCATELLI et al., 2002).

Os conhecidos efeitos adversos de uma dieta rica em colesterol em doenças cardiovasculares (aterosclerose, isquemia cerebral) podem também contribuir para o aumento do risco no desenvolvimento de DA (CASSELY & TOPOL, 2004). Dados recentes têm sugerido que o colesterol pode agir diretamente na cascata proteolítica de APP, promovendo o aumento da secreção anormal de Aβ. Agindo na superfície da membrana celular de neurônios, as concentrações elevadas de colesterol livre podem causar a formação de regiões chamadas “bolsas lipídicas”, áreas da membrana ricas em colesterol, onde a APP, β e γ-secretases tendem a co-localizarem-se. Pelo favorecimento da formação de tais regiões, os níveis aumentados de colesterol na membrana podem resultar no processamento preferencial de APP para a secreção de Aβ (KOJRO, et al., 2001). Além disso, nessas regiões da membrana podem estar ocorrendo outros eventos desfavoráveis, como sinalização para a morte celular por apoptose (EHEHALT et al., 2003) e estresse oxidativo (CUTLER et al., 2004).

APOPROTEÍNA ε4 (APOE ε4) e a Doença de Alzheimer

As apoproteínas E (APOE) são uma classe de proteínas, componentes das lipoproteínas, responsáveis pelo transporte de colesterol entre órgãos através da circulação sanguínea. Em humanos, há três variantes ou alelos de APOE: epsilon 2 (APOEε2), epsilon 3 (APOEε3) e epsilon 4 (APOEε4). A forma mais comum, cerca de 78% dos alelos APOE em humanos, é a APOE ε3; alelos APOEε4 e APOEε2 correspondem 15% e 7%, respectivamente (NELSON & COX, 2004).

Depois do fígado, o cérebro produz as maiores quantidades de APOE. Os astrócitos e a microglia são as principais fontes de APOE extracelular (NAIDU et al., 2002). O risco para o desenvolvimento da DA aumenta nas pessoas que herdaram o alelo APOEε4, constituindo o fator genético mais significativo associado à DA de início tardio (MANN et al., 2004). Além disso, a presença de um ou mais alelos ε4 decresce a idade inicial do aparecimento da doença em 10 anos (CORDER et al., 1994).

A APOE ϵ 4 foi primeiramente descrita como um fator de risco genético para doenças cardiovasculares, presumivelmente por seu papel em facilitar a circulação de colesterol, sobretudo na forma de LDL. Na pré-disposição à DA, o alelo APOE ϵ 4 pode atuar por conferir altos níveis de colesterol, facilitando a secreção de A β 42 a partir de APP. Além de atuar na formação das placas senis, alguns estudos relacionam a presença de APOE ϵ 4 também ao aumento dos emaranhados neurofibrilares (LAHIRI et al., 2004).

Fisiologicamente, as proteínas APOE ϵ 2 e ϵ 3 parecem estabilizar o citoesqueleto neuronal, por se ligarem a uma série de proteínas associadas a microtúbulos. As proteínas APOE ϵ 4, no entanto, não o fazem. Esta não-ligação pode acelerar a morte neuronal (NELSON & COX, 2004). Já existem testes diagnósticos para a genotipagem de APOE em alguns laboratórios, mas o seu papel na prevenção da DA continua indefinido.

ESTATINAS

As estatinas são consideradas, atualmente, como as drogas mais promissoras no controle da hipercolesterolemia. Sua ação consiste em inibir a enzima HMG-CoA redutase (3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A), limitando a velocidade na síntese do colesterol. A **simvastatina**, a **lovastatina**, a **pravastatina**, a **mevastatina** e a mais recente **aprovastatina** são inibidores competitivos específicos e reversíveis da enzima, levando à redução na síntese hepática de colesterol.

Com essa redução, ocorre o aumento da síntese dos receptores de LDL e, portanto, aumenta a depuração das lipoproteínas LDL. O principal efeito bioquímico das estatinas é a redução das concentrações plasmáticas de LDL, diminuindo os níveis de colesterol que são disponibilizados para as células (RANG & DALE, 2004). Além disso, as estatinas diminuem os níveis de triglicerídeos e levam a um pequeno aumento de HDL.

Os estudos relacionando o colesterol e a DA foram baseados em dados que demonstram uma baixa prevalência e um menor risco para a DA em indivíduos que tomam estatinas (JICK, H. et al., 2000; WOLOZIN, B. et al., 2000). Crescentes evidências mostram que as estatinas podem estar agindo por efeitos benéficos adicionais que não podem ser completamente explicados pelos seus efeitos em reduzir os níveis de colesterol.

As estatinas podem agir como agentes antiinflamatórios, diminuindo o dano causado pelo peptídeo A β (BALES, K.R. et al., 2000). Além disso, um estudo de 2002 (NAIDU, A. et al., 2002) mostra que as estatinas (lovastatina e mevastatina) são capazes de bloquear a liberação de APOE a partir de células gliais em cultura de células e de tecido. Diminuindo os níveis extracelulares de APOE, as estatinas - e não as outras drogas redutoras de colesterol - levam à redução da deposição do peptídeo A β e a formação da placa senil.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Doença de Alzheimer não é uma desordem nova, mas atualmente o aumento da sua prevalência na população idosa tem mobilizado os cientistas e médicos de todo o mundo na busca de esclarecimentos: principal causa, qual a população mais atingida, se existe cura, quais as medidas profiláticas mais eficazes. Estudos epidemiológicos são realizados cada vez mais frequentemente na busca de respostas. Os resultados desses estudos têm demonstrado uma ligação entre os altos níveis de colesterol, o polimorfismo da apoproteínaE e o uso das estatinas, drogas redutoras de colesterol.

Mais estudos conclusivos devem ser realizados a fim de descrever ações mais específicas das estatinas e até de novas drogas relacionadas. Mas, de grande importância, é o papel da dieta (pobre em colesterol) e da prevenção nessas desordens graves e ainda irreversíveis.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem às agências financiadoras, Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), Pró-reitoria de Pesquisa (Propesq) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (Fapergs), ao Departamento de Bioquímica da UFRGS, local de trabalho e estudo de todos os autores, e à farmácia Fitonfarma de Porto Alegre pelo apoio para futuros projetos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- BAGHDASARIAN, S.B.; JNEID, H.; HOOGWERF, B.J. Association of Dyslipidemia and Effects of Statins on Nonmacrovascular Diseases, *Clin. Ther.* v. 26, n.3, p.337-51, 2004.
- BALES, K.R.; DU, Y.; HOLTZMAN, D.; CORDELL, B.; PAUL, S.M. Neuro-inflammation and Alzheimer's disease: critical roles for cytokine/ A β -induced glial activation, NF- κ B, and apolipoprotein E, *Neurobiol. Aging.* v.21, p.427-432, 2000.
- CASSERLY, I.; TOPOL, E. Convergence of atherosclerosis and Alzheimer's disease: inflammation, cholesterol, and misfolded proteins. *Lancet.* v.363, n.9415, p.1139-46, 2004.
- CORDER, E.H.; SAUNDERS, A.M.; RISCH, N.J.; STRITTMATTER, W.J.; SCHMECHEL, D.E.; GASKELL, P.C.; JR, RIMMLER, J.B.; LOCKE, P.A.; CONNEALLY, P.M.; SCHMADER, K.E. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nat.Genet.* v.7, p.180-184, 1994.
- CUMMINGS, J.L.; VINTERS, H.V.; COLE, G.M. Alzheimer's disease: etiologies, pathophysiology, cognitive reserve, and treatment opportunities. *Neurol.* v.51 (1 Suppl 1), S2-17, 1998.
- CUTLER, R.G.; KELLY, J.; STORIE, K.; PEDERSEN, W.A.; TAMMARA, A.; HATANPAA, K.; TRONCOSO, J.C.; MATTSO, M.P. Involvement of oxidative stress-induced abnormalities in ceramide and cholesterol metabolism in brain aging and Alzheimer's disease. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* v.101, p. 2070-2075, 2004.
- EHEHALT, R. et al. Amyloidogenic processing of the Alzheimer beta-amyloid precursor protein depends on lipid rafts. *J. Cell Biol.* v.160, p. 113-123, 2003.
- FORMAN, M.S.; TROJANOWSKI, J.Q.; LEE, V.M-Y. Neurodegenerative diseases: a decade of discoveries paves the way for therapeutic breakthroughs. *Nat.* v.10, p.1055-61, 2004.
- HAMDANE, M.; DELOBEL, P.; SAMBO, A.V.; SMET, C.; BEGARD, S.; VIOLLEAU, A.; LANDRIEU, I.; DELACOURTE, A.; LIPPENS, G.; FLAMENT, S.; BUEE, L. Neurofibrillary degeneration of the Alzheimer-type: an alternate pathway to neuronal apoptosis? *Biochem. Pharmacol.* v. 66, n.8, p.1619-25, 2003.
- JICK, H.; ZORNBERG, G.L.; JICK, S.S.; SESHADRI, S.; DRACHMAN, D.A. Statins and the risk of dementia, *Lancet* v.356, p. 1627-1631, 2000.
- KOJRO, E.; GIMPL, G.; LAMMICH, S.; MARZ, W.; FAHRENHOLZ, F. Low cholesterol stimulates the nonamyloidogenic pathway by its effect on protein kinase C. *J Biol Chem.* v.276, p. 17036-43, 2001.
- LAFERLA, F.M. Calcium dyshomeostasis and intracellular signalling in Alzheimer's disease, *Nat. Rev. Neurosci.* v.3, p.862 - 872, 2002.
- LAHIRI, D.K.; SAMBAMURTI, K.; BENNETT, D.A. Apolipoprotein gene and its interaction with the environmentally driven risk factors: molecular, genetic and epidemiological studies of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* v.25, p. 651-660, 2004.
- LOCATELLI, S.; LUTJOHANN, D.; SCHMIDT, H.H.; OTTO, C.; BEISIEGEL, U.; VON BERGMANN, K. Reduction of plasma 24S-hydroxycholesterol (cerebrosterol) levels using high-dosage simvastatin in patients with hypercholesterolemia:

- evidence that simvastatin affects cholesterol metabolism in the human brain. *Arch. Neurol.* v. 59(2), p. 213-6, 2002.
- MANN, K.M.; THORNGATE, F.E.; KATOH-KUKUL, Y.; HAMANAKA, H.; WILLIAMS, D.L.; FUJITA, S.; LAMB, B.T. Independent effects of APOE on cholesterol metabolism and brain A β levels in an Alzheimer disease mouse model. *Hum. Mol. Genet.* v.13, n.7, p.1959-1968, 2004.
- MATTSON, M.P. & CHAN, S.L. Neuronal and glial calcium signaling in Alzheimer's disease. *Cell Calcium.* v.34, p.385-97, 2003.
- MATTSON, M.P. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nat.* v. 430(7000), p.631-9, 2004.
- NAIDU, A.; XU, Q.; CATALANO, R.; CORDELL, B. Secretion of apolipoprotein E by brain glia requires protein prenylation and is suppressed by statins. *Brain Res.* v.958, n.1, p.100-11, 2002.
- NELSON, D.L.; COX, M.M. *Lehninger Principles of Biochemistry* 4.Ed. Cidade: Editora, 2004. 1111p.]
- PHIEL, C.J.; WILSON, C.A.; LEE, V.M.; KLEIN, P.S. GSK-3 α regulates production of Alzheimer's disease amyloid-beta peptides. *Nat.*, v.22; n.423, p.6938, 2003.
- PUGLIELLI, L.; TANZI, R.E.; KOVACS, D.M. Alzheimer's disease: the cholesterol connection. *Nat. Neurosci.* v. 6, n.4, p.345-51, 2003.
- RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; MOORE P.K. Distúrbios neurodegenerativos. In: *Farmacologia*. 5.Ed., Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, p.559-573, 2004.
- SELKOE & SCHENK, 2003 Alzheimer's disease: molecular understanding predicts amyloid-based therapeutics *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* v.43, p.545-584, 2003.
- SIMONS, M.; KELLER, P.; DICHGANS, J.; SCHULZ, J.B. Cholesterol and Alzheimer's disease: is there a link? *Neurol.* v. 57, n.6, p. 1089-93, 2001.
- ST. GEORGE-HYSLOP, P.H.; WESTAWAY, D.A. Alzheimer's disease: Antibody clears senile plaques *Nat.* v.400, p.116-17, 1999.
- WOLOZIN, B.; KELLMAN, W.; RUOSSEAU, P.; CELESIA, G.G.; SIEGEL, G. Decreased prevalence of Alzheimer disease with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arch. Neurol.* v.57, p.1439-1443, 2000.