

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA

ESPECIALIZAÇÃO EM FARMACOLOGIA

**REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS NA DOENÇA DE PARKINSON: ANTI-
INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDES COMO POTENCIAIS FÁRMACOS PARA
MINIMIZAR A NEURODEGENERAÇÃO.**

FERNANDA VALADARES MACIEL

BELO HORIZONTE

2018

FERNANDA VALADARES MACIEL

REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS NA DOENÇA DE PARKINSON: ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDES COMO POTENCIAIS FÁRMACOS PARA MINIMIZAR A NEURODEGENERAÇÃO.

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para aprovação no curso de Especialização em Farmacologia do Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

Orientador: Helton J. Reis

BELO HORIZONTE

Junho/2018

043 Maciel, Fernanda Valadares.

Reposicionamento de fármacos na Doença de Parkinson: anti-inflamatórios não esteroides como potenciais fármacos para minimizar a neurodegeneração [manuscrito] / Fernanda Valadares Maciel. – 2018.

66 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Helton J. Reis.

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para aprovação no curso de Especialização em Farmacologia do Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

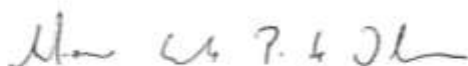
1. Farmacologia. 2. Doença de Parkinson. 3. Degeneração Neuronal. 4. Reposicionamento de Medicamentos. 5. Anti-Inflamatórios não Esteroides. I. Reis, Helton José. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 615

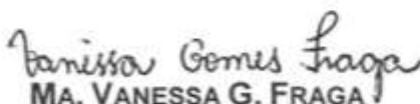
REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS NA DOENÇA DE
PARKINSON: ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDES COMO
POTENCIAIS FÁRMACOS PARA MINIMIZAR A
NEURODEGENERAÇÃO

FERNANDA VALADARES MACIEL

Monografia de Especialização defendida e aprovada, no dia **29 de junho de 2018**, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



PROF. ANTÔNIO CARLOS PINHEIRO DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



MA. VANESSA G. FRAGA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



PROF. HELTON DOS REIS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ORIENTADOR

AGRADECIMENTOS

Ao professor PhD. Helton José Reis, orientador desse trabalho, que com sua dedicação e competência contribui para meu crescimento científico e intelectual.

Ao Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciência Biológicas pela oportunidade de realização do curso de Especialização em Farmacologia.

À Universidade Federal de Minas Gerais por ter disponibilizado as ferramentas que permitiram a realização desse trabalho.

RESUMO

Segundo a Organização Mundial de Saúde, distúrbios neurológicos como doença de Parkinson (DP) representam mais de 6% da carga global de doenças. A DP, descoberta há mais de 200 anos, se caracteriza pela perda progressiva de neurônios dopaminérgicos da Substância Negra *pars compacta* (SNpc), causando anormalidade no controle dos movimentos. Diversos fatores podem culminar na neurodegeneração, dentre eles evidências sugerem que a neuroinflamação tem um papel importante. Embora a resposta inflamatória cerebral seja potencialmente benéfica, estudos recentes sugerem que pode acentuar degeneração progressiva de neurônios dopaminérgicos. Assim, com o objetivo de retardar o processo neurodegenerativo, o reposicionamento de fármacos anti-inflamatórios não esteroides (AINES) para tratar a DP vem sendo pesquisado. Este estudo analisou bibliografia referente ao assunto com o intuito de verificar se AINES produzem resultados positivos na diminuição da neurodegeneração na DP.

Palavras chaves: Doença de Parkinson, Neurodegeneração, Neuroinflamação, Reposicionamento de fármacos, Anti-inflamatórios não esteroides.

ABSTRACT

According to the World Health Organization, neurological disorders such as Parkinson's disease (PD) account for more than 6% of the disease global burden. PD, discovered more than 200 years ago, is characterized by the progressive loss of dopaminergic neurons of the Substantia Nigra pars compacta (SNpc), causing an abnormality in movement control. Several factors may culminate in neurodegeneration, among them evidence suggests that neuroinflammation plays an important role. Although brain inflammatory response is potentially beneficial, recent studies suggest that it can cause progressive degeneration of dopaminergic neurons. Thus, in order to delay the neurodegenerative process, the repositioning of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) to treat PD has been investigated. This study analyzed bibliographies referring to the subject in order to verify if NSAIDs produce positive results in the reduction of neurodegeneration in PD.

Keywords: Parkinson's disease, Neurodegeneration, Neuroinflammation, Drug repositioning, Nonsteroidal anti-inflammatory drugs.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Sintomas clínicos e curso temporal da progressão da doença de Parkinson.	15
Figura 2: Neuropatologia da doença de Parkinson.	17
Figura 3: Corpos Lewy.	18
Figura 4: Mecanismos que contribuem para lesões neuronais.	20
Figura 5: A disfunção mitocondrial afeta diversos processos celulares que podem culminar na morte celular.	23
Figura 6: Oxidação da dopamina à neuromelanina.	25
Figura 7: Fatores que levam a toxicidade neuronal.	26
Figura 8: Papel hipotético de mecanismos celulares na degeneração dopaminérgica na doença de Parkinson.	29
Figura 9: Possível ligação entre os processos neuroinflamatórios e o dano oxidativo aos neurônios dopaminérgicos na doença de Parkinson.	31
Figura 10: Possíveis mecanismos subjacentes às consequências deletérias dos processos neuroinflamatórios na doença de Parkinson.	33
Figura 11: Estrutura da COX1 e COX2.	35
Figura 12: Formação de prostanoídes pela via da COX.	36
Figura 13: Custo médio para desenvolver e aprovar uma nova droga.	41
Figura 14: Representação Sistemática da (A) descoberta tradicional versus (B) reposicionamento de fármacos.	44
Figura 15: Classificação dos AINES.	48
Figura 16: Efeitos clássicos versus não clássicos de AINES.	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

6-OHDA	6-hidroxi-dopamina
AA	Ácido Araquidônico
AAS	Ácido Acetilsalicílico
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AINES	Anti-inflamatórios não esteroides
ALS	Esclerose lateral amiotrófica
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AS	Ácido Salicílico
ATP	Adenosina trifosfato
AUC	Área sob a curva
AVC	Acidente Vascular Cerebral
CD	Grupo de diferenciação
CID	Código internacional das doenças
COMT	Catecol-o-metil-transferase
COX	Ciclo-oxigenase
cPLA4	Fosfolipase A2 citosólica
CYP	Citocromo
DA	Dopamina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Doença de Parkinson
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food Drug Administration
GBA	Glucosilceramidase
GLU	Glutamato
GSTM2	Glutathione S-transferase M2
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HLADR	Anticorpo leucocitário-DR
IgG	Imunoglobulina G
IL	Interleucina

iNOS	Óxido nítrico sintase
INF γ	Interferon gama
iPLA2	Fosfolipase A2 cálcio independente
LAG-3	Gene 3 de ativação de linfócitos
LCE	Líquido cérebro espinal
L-dopa	L-3-4-dihidrofenilalanina
LOX	Lipo-oxigenase
L-PGDS	Lipocalina prostaglandina D sintase
LTs	Leucotrienos
MAO	Monoaminoxidase
MMP-3	Metaloproteinase
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
MTPT	1-metil-4-fenil-1,2,5,6-tetrahidropiridina
NF-KB	Fator de Necrose KB
NM	Neuromelanina
NMDA	N-metil-aspartato
NO	Oxido Nítrico
NSAIDs	“Nonsteroidal anti-inflammatory drug”
O ₂	Oxigênio
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAF	Fator Ativador de Plaqueta
PAR	Receptor Ativado por Protease
P&D	Pesquisa e Desenvolvimento
PG	Prostaglandina
PGs	Prostaglandinas
pH	Potencial Hidrogeniônico
pKa	Logaritmo da constante de dissociação de ácido
PL	Fosfolipase
PLA2	Fosfolipase A2
PPAR γ	Receptor Gamma Ativado por Proliferador de Peroxisoma
RNS	Espécie Reativa de Nitrogênio
ROS	Espécie reativa de Oxigênio

SN	Substância Negra
SNC	Sistema Nervoso Central
SNCA	α -sinucleína
SNpc	Substância negra <i>pars compacta</i>
SOD	Superóxido dismutase
sPLA3	Fosfolipase A2 secretória
STAMP	<i>Safe and Timely Access to Medicines for Patients</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TXA2	Tromboxano A2

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
3. JUSTIFICATIVA	12
4. METODOLOGIA	13
5. DOENÇA DE PARKINSON.....	14
5.1. FISIOPATOLOGIA.....	16
5.1.1. Agregação de proteínas alteradas	17
5.1.2. Excitotoxicidade	18
5.1.3. Estresse oxidativo.....	21
5.1.4. Disfunção mitocondrial	22
5.1.5. Apoptose.....	23
5.1.6. Formação de aminocromo na oxidação da dopamina à neuromelanina	24
5.1.7. Neuroinflamação.....	26
6. PROSTANOIDES NA NEUROINFLAMAÇÃO	34
7. REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS	38
7.1. NOVOS FÁRMACOS <i>versus</i> REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS.....	40
7.2. REPOSICIONAMENTO DE FARMÁCOS PARA O SNC.....	44
8. REPOSICIONAMENTO DOS AINES PARA DP	45
8.1. AINES	46
8.1.1. Características químicas dos AINES	47
8.1.2. Farmacocinética.....	48
8.1.3. Mecanismo de ação dos AINES na inflamação	49
8.2. AINES NA DP.....	50
9. CONCLUSÃO.....	59
10. REFERÊNCIAS.....	61

1. INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson (DP) é conceituada como um transtorno neurodegenerativo que prejudica os movimentos e incapacita o paciente. Atualmente é a segunda maior doença neurodegenerativa em todo mundo, perdendo apenas para a doença de Alzheimer^{1, 2}.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), os distúrbios neurológicos como a epilepsia, a DP, a doença de Alzheimer e algumas das outras condições que causam prejuízo e sequelas neurológicas representam mais de 6% da carga global das doenças³. Essa mesma instituição calcula que aproximadamente 1% da população mundial com idade superior a 65 anos tem DP. Só no Brasil, estima-se que cerca de 200 mil pessoas sofram com o problema⁴. A prevalência de DP é de aproximadamente 160 casos por 100.000 habitantes e a incidência é de cerca de 20 casos por 100.000 habitantes⁵.

A doença de Parkinson é um distúrbio neurodegenerativo lentamente progressivo que começa anos antes do diagnóstico ser feito e manifesta com uma ampla gama de sintomas⁶. A característica principal da doença é uma diminuição da sinalização dopaminérgica da região estriatal do sistema nervoso central (SNC), causando os sintomas motores da doença⁶.

Embora a causa da doença seja pouco conhecida, acredita-se que diversos fatores contribuam para a neurodegeneração. Sabe-se que estão envolvidos vários eventos celulares e moleculares, incluindo envelhecimento, estresse oxidativo, agregados proteicos, excitotoxicidade, disfunção mitocondrial, apoptose e toxinas ambientais⁷. Recentemente, sugeriu-se que os mecanismos neuroinflamatórios contribuam para a cascata de eventos que leva à morte dos neurônios dopaminérgicos⁸. Assim, a neuroinflamação pode ser uma consequência da neurodegeneração, mas também pode estar envolvida diretamente no processo de morte neuronal.

As terapias disponíveis até o momento para a DP só tratam os sintomas da doença⁶. Um dos principais desafios da patologia é o desenvolvimento de fármacos que retardem ou mesmo impeçam o processo neurodegenerativo.

Uma abordagem para acelerar a descoberta de tratamento para a DP é examinar novos usos para medicamentos já aprovados, conhecido como reposicionamento ou recolocação de fármacos. Esse método possui vantagens

comerciais, uma vez que é significativamente mais tempo e custo-efetivo, mais seguro, já que é conhecido o perfil farmacológico do medicamento em estudo.

O reposicionamento de anti-inflamatórios já existentes no mercado vem sendo estudado para o tratamento da DP, pois o processo neuroinflamatório crônico tem-se mostrado prejudicial aos neurônios dopaminérgicos⁹. Evidências experimentais e epidemiológicas apoiam o papel protetor dos anti-inflamatórios não esteroides (AINES) no Parkinsonismo⁹.

Os AINES são fármacos com a segurança e eficácia já conhecidas que inibem a atividade da ciclo-oxigenase (COX) e interrompem parte da resposta pró-inflamatória¹⁰. A hipótese de que o uso terapêutico de tais fármacos pode ter um efeito neuroprotetor que minimiza a morte das células dopaminérgicas é tentadora⁹.

2. OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho é verificar, por meio de revisão bibliográfica, o reposicionamento de fármacos na doença de Parkinson, avaliando se anti-inflamatórios não esteroides produzem resultados positivos na diminuição da neurodegeneração observado nessa doença, elegendo-os como potenciais fármacos para compor o tratamento da DP.

3. JUSTIFICATIVA

A Doença de Parkinson, descoberta há mais de 200 anos, é a segunda doença neurodegenerativa mais prevalente, acometendo aproximadamente 1% da população mundial acima de 65 anos⁴. Ela ainda não possui cura, apenas os seus sintomas são tratados, tentando fornecer ao paciente qualidade de vida. Como a terapia é apenas paliativa e um tratamento modificador do transtorno não está disponível, a DP é progressiva e incapacitante. Essa doença gera altos custos para sistema de saúde, sendo um dos problemas de saúde pública relacionado ao idoso⁷⁹.

A principal característica da patologia é a neurodegeneração de neurônios dopaminérgicos, em que diversos fatores estão envolvidos. Evidências sugerem que o processo inflamatório cerebral, envolvido na defesa do organismo, pode ocasionar a morte de neurônios dopaminérgicos da SNpc. Assim, é considerável assumir que fármacos que tratem a inflamação possam reduzir a morte neuronal.

O uso de fármacos que já estão registrados e que já se tem conhecimento a respeito do mecanismo de ação, segurança, dose, efeitos adversos é uma alternativa mais rápida, mais barata e mais segura para pesquisa. Os AINES, fármacos clássicos para tratamento de inflamação, são extensivamente usados e possuem conhecida sua ação e segurança, além de serem de fácil acesso à população, pois fazem parte da relação de medicamentos fornecidos pelo SUS (Sistema Único de Saúde). Assim, estudos com essa classe de medicamentos estão sendo realizados para verificar a eficácia na redução da neurodegeneração.

Portanto, com o propósito elencar potenciais fármacos para tratar a DP, uma revisão bibliográfica sobre o reposicionamento de AINES para reduzir a neurodegeneração na DP é necessária.

4. METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão bibliográfica referente a publicações nos últimos 17 anos (2000 a 2017) sobre o uso de AINES com efeito na neurodegeneração na doença de Parkinson.

Foi buscado na base de dados Medline/Pubmed estudos usando os termos “Parkinson”; “Parkinson’s Disease”; “Parkinson NSAID”; “NSAIDs”; “Drug Repositioning”; “Drug replenishment”; “Drug Repositioning in Parkinson’s Disease”. Os artigos que relacionavam o uso de AINES no tratamento de Doença de Parkinson foram selecionados e analisados de acordo com o objetivo do estudo. Aqueles que não apresentaram clareza e adequação ao tema foram excluídos. Também foram escolhidos artigos sobre DP, reposicionamento de fármacos e AINES para embasar o trabalho.

Muitos artigos referenciados naqueles selecionados foram coletados, analisados e usados para compor essa monografia.

5. DOENÇA DE PARKINSON

A doença de Parkinson foi relatada a primeira vez em 1817 por James Parkinson (1755-1824), um cirurgião inglês, boticário, geólogo, paleontólogo e ativista político, como “paralisia agitante”. Ele observou indivíduos que caminhavam pelas ruas de Londres com associação singular de tremor em repouso, lentidão (bradicinesia) ou, em alguns casos, ausência de movimentos voluntários (acinesia), postura encurvada e marcha festinante e, a partir disso, descreveu seis casos da doença na monografia “Um ensaio sobre a paralisia agitante”^{1, 11}.

Em 1864, Charcot e Vulppian preencheram as falhas deixadas por James na publicação “De La paralisie agitante”, dando o nome para a enfermidade de Doença de Parkinson⁵. Após essas descobertas iniciais, uma sucessão de cientistas contribuiu para uma descrição mais abrangente do dessa doença¹.

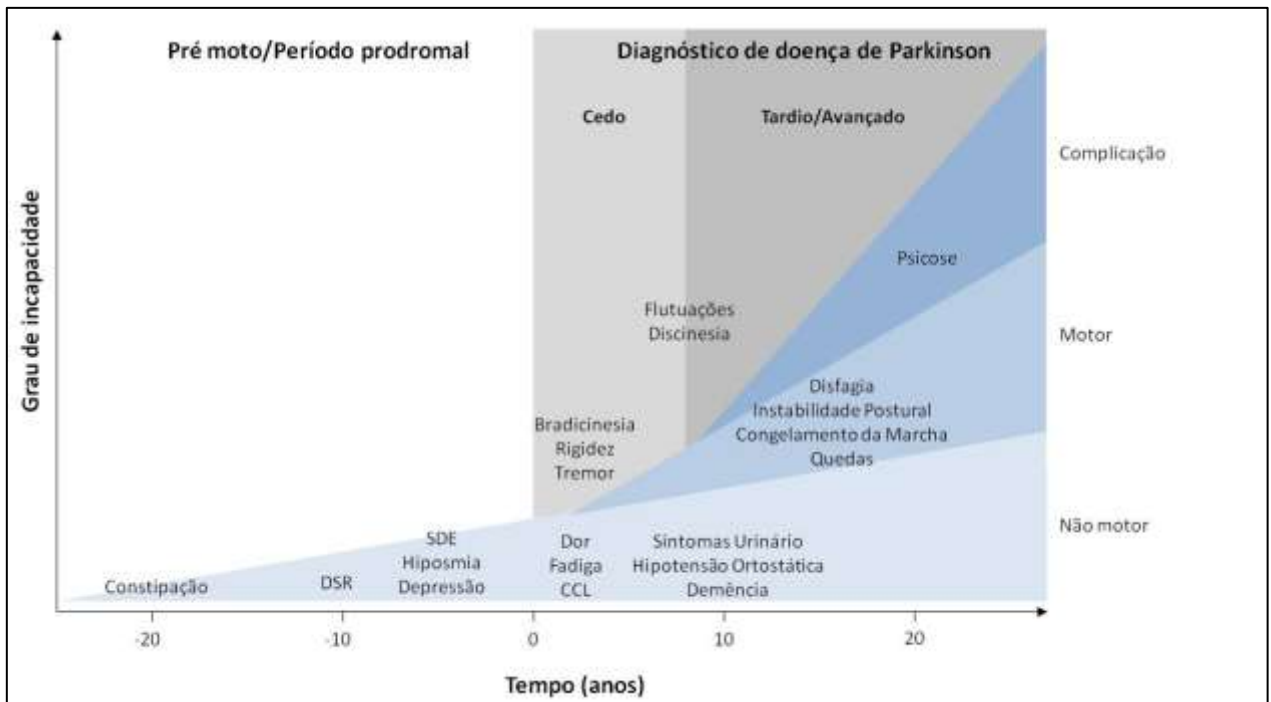
Atualmente, a doença de Parkinson é vista como um distúrbio neurodegenerativo lentamente progressivo que começa anos antes do diagnóstico ser feito⁸.

Antigamente, pensava-se que a doença de Parkinson era causada principalmente por meio de um fator, mas atualmente pesquisas revelam que a doença se desenvolve a partir de uma combinação de diversos fatores, com contribuições de predisposição genética, toxinas ambientais e envelhecimento^{5, 1}.

Vários estudos indicaram que a DP é mais comum entre parentes em que casos já foram diagnosticados. Parentes de primeiro grau de indivíduos com Parkinson são duas a três vezes mais propensos a desenvolver a doença⁵.

A DP manifesta seus sinais e sintomas clássicos, geralmente, entre 40 e 70 anos, com o pico na sétima década. As alterações patológicas da DP podem aparecer muito cedo, até três décadas antes da aparição dos sinais clínicos⁴. A doença está associada a numerosos sintomas não motores, alguns dos quais precedem disfunção motora em mais de uma década⁴. Entre a ampla gama de sinais e sintomas os pacientes manifestam principalmente a bradicinesia, rigidez muscular, tremor em repouso, desequilíbrio postural resultando em distúrbios da marcha e quedas (Figura 1)¹².

Figura 1: Sintomas clínicos e curso temporal da progressão da doença de Parkinson.



O diagnóstico da DP ocorre com o início dos sintomas motores (tempo 0 ano), mas é precedido por uma fase pré-motora/prodrômica de 20 anos ou mais. Essa fase é caracterizada por sintomas não motores específicos. Características não motoras adicionais desenvolvem com a progressão da doença, causando incapacidade clinicamente significativa. Os sintomas motores, como instabilidade postural com quedas frequentes e congelamento da marcha, tendem a ocorrer em fases avançadas. As complicações a longo prazo, incluindo flutuações, discinesia e psicose, também contribuem para a incapacidade. SDE = sonolência diurna excessiva. CCL = comprometimento cognitivo leve. DSR = distúrbio do comportamento do sono REM. Fonte: KALIA, Lorraine V.; LANG, Anthony E.; 2015.

Os tratamentos farmacológicos e não farmacológicos existentes hoje oferecem apenas alívio sintomático para os pacientes. Como esses tratamentos não são capazes de interromper ou reverter o processo neurodegenerativo, principal característica patológica da doença, a DP permanece incurável. Contudo, os sintomas motores podem ser reduzidos por muitos medicamentos que aumentam o nível de dopamina (DA) no SNC ou imitam seus efeitos. O padrão ouro para o tratamento da DP atualmente é a levodopa, um precursor de DA, associado a inibidores dos aminoácidos L-aromáticos descarboxilase (carbidopa ou benserazida). Outros fármacos comumente prescritos são agonistas dos receptores de DA (Pramipexol, Ropinirol, Bromocriptina, Apomorfina), inibidores de monoaminoxidase (MAO) (selegilina e rasagilina), antagonista dos receptores glutamatérgicos do tipo N-metil-D-Aspartato (NMDA) (amantadina), inibidores de

catecol-o-metil-transferase (COMT) (entacapona e tolcapona) e agentes anticolinérgicos (triexifenidil, benztropina e difenidramina)^{8, 12}.

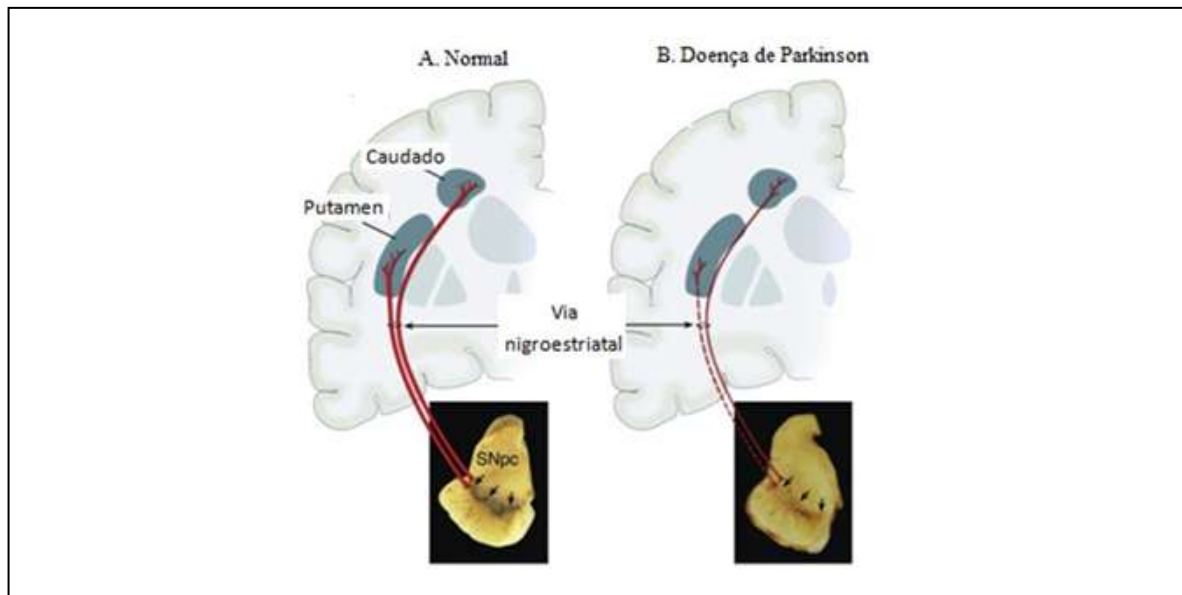
5.1. FISIOPATOLOGIA

Na DP há uma neurodegeneração generalizada no SNC, especialmente dos neurônios da SNpc e de suas projeções ascendentes para o estriado (caudado e putamen), levando a anormalidade no controle dos movimentos, devido a diminuição da dopamina^{8,12,13}. A morte dos neurônios no SNC também pode ocasionar depressão, comprometimento cognitivo, sintomas psiquiátricos, distúrbios do sono. Mesmo neurônios fora do SNC, como aqueles no bulbo olfatório ou sistema mesentérico, degeneraram⁹. Isso provoca sintomas não motores¹ como a hiposmia (diminuição da capacidade olfativa), disfunção autonômica, dor e fadiga⁶.

A perda progressiva de neurônios dopaminérgicos é uma característica do envelhecimento natural, mas a maioria das pessoas não perde o suficiente para desenvolver a doença, que representa uma perda de 70 a 80%¹². No início dos sintomas motores, momento em que geralmente um paciente é diagnosticado, cerca de 60% dos neurônios SNpc estão degenerados e 80% do conteúdo de DA no putâmen está esgotado (Figura 2)¹⁴.

A origem da degeneração neuronal ainda é estudada. Vários eventos moleculares e celulares podem estar envolvidos, incluindo agregação de proteínas alteradas, excitotoxicidade, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e mecanismos pró-apoptóticos¹⁴. Recentemente, sugeriu-se que, apesar da inflamação favorecer a recuperação dos neurônios lesados, os mecanismos neuroinflamatórios ativados cronicamente contribuem para a cascata de eventos que leva à degeneração neuronal^{8,15}.

Figura 2: Neuropatologia da doença de Parkinson.



(A) Representação esquemática da via nigrostriatal normal (em vermelho). Composto de neurônios dopaminérgicos cujos corpos celulares estão localizados na substância nigra pars compacta (SNpc; ver setas). Estes neurônios projetam (linhas vermelhas sólidas grossas) aos gânglios basais e sinapse no estriado (ex.: putâmen e núcleo caudado). A fotografia demonstra a pigmentação normal do SNpc, produzida por neuromelanina dentro dos neurônios dopaminérgicos. (B) Representação esquemática da via nigrostriatal na doença (em vermelho). Na doença de Parkinson, a via nigrostriatal degenera. Há uma marcada perda de neurônios dopaminérgicos que se projetam para o putâmen (linha tracejada) e uma perda muito mais modesta daqueles que se projetam para o caudado (linha sólida vermelha fina). A fotografia demonstra a despigmentação (ou seja, a perda de pigmentação marrom escuro da neuromelanina, ver setas) do SNpc devido à perda de neurônios dopaminérgicos. Fonte: DAUER, William; PRZEDBORSKI, Serge; 2003.

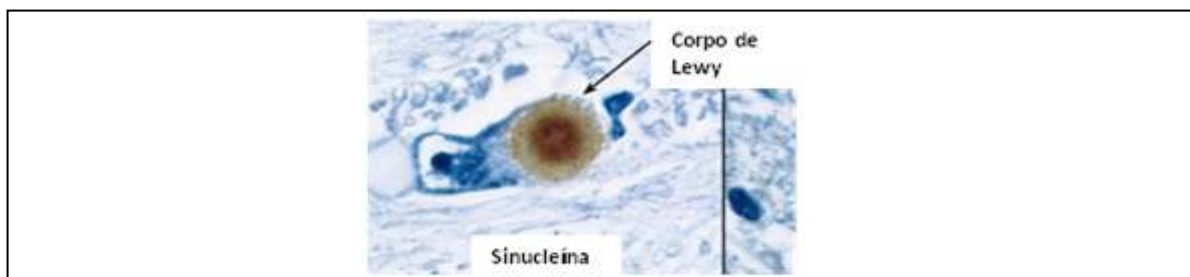
5.1.1. Agregação de proteínas alteradas

Erros no enovelamento (*misfolding*) e agregação proteicas são achados comuns nas doenças neurodegenerativas¹⁶. Os dobramentos proteicos errados expõem resíduos hidrofóbicos, que normalmente estariam protegidos no interior da estrutura da proteína, promovendo uma forte tendência dessas moléculas aderirem às membranas celulares e formarem agregados. No sistema nervoso, os agregados frequentemente formam estruturas distintas, conhecidas como depósitos amiloides, característicos nas doenças neurodegenerativas, que se depositam dentro dos neurônios comprometendo a função celular e podendo ocasionar a morte desses^{16,17}.

As conformações com dobramentos proteicos alterados podem ser geradas espontaneamente em velocidade lenta por toda a vida, de forma que os agregados acumulam-se gradualmente com a idade. A tendência para adotar tais conformações pode ser favorecida por mutações específicas da proteína em questão ou por infecção por príons¹⁷.

Na DP é a α -sinucleína que pode estar mutada, causando a patologia de Lewy, que se caracteriza por acúmulo dessa proteína dobrada anormalmente e agregada dentro do corpo da célula (corpos de Lewy) e processos dos neurônios (neuritos de Lewy). Os corpos de Lewy são encontrados, além do cérebro, nos nervos da medula espinhal do sistema nervoso periférico, o que contribui para justificar os sintomas não esclarecidos pela falta de dopamina: sintomas não motores (Figura 3)⁶.

Figura 3: Corpos Lewy.



Marcação imunohistoquímica de inclusões intraneuronais, denominadas corpos de Lewy, em um neurônio dopaminérgico SNpc. A imunocoloração com um anticorpo contra α -sinucleína revela um corpo de Lewy (seta preta) com uma zona central intensamente imunorreativa cercada por uma zona periférica ligeiramente imunorreativa. Fonte: DAUER, William; PRZEDBORSKI, Serge; 2003.

Existe controvérsia se os corpos de Lewy promovem a toxicidade ou se talvez protejam a célula de efeitos nocivos das proteínas dobradas erradas, sequestrando-as em um compartimento insolúvel (agregados de proteína neurotóxicos) longe dos elementos celulares, para preservar a viabilidade neuronal¹⁴. Porém, sabe-se que agregados proteicos de α -sinucleína ativam a micróglia, causando neuroinflamação^{8,10}.

5.1.2. Excitotoxicidade

O glutamato é um neurotransmissor excitatório rápido, predominante no sistema nervoso central, que pode contribuir para o processo neurodegenerativo

subjacente à patogênese do DP¹⁸. Ele é altamente tóxico para os neurônios¹⁷ e em altas concentrações pode levar à morte neuronal¹².

O SNC é notavelmente resistente ao potencial de toxicidade do glutamato, graças a um sistema de recaptção altamente eficiente que rapidamente remove excesso do aminoácido da fenda sináptica¹⁸. Assim, aumentos rápidos e maciços nos níveis de glutamato são necessários para superar a recaptção e causar danos neuronais¹⁸. A combinação de liberação excessiva e recaptção prejudicada do glutamato na sinapse leva a um excesso de estimulação dos receptores de glutamato e subsequente morte celular¹².

Praticamente todos os subtipos de receptores de glutamato foram implicados na neurotoxicidade mediada pelo excesso de NT (neurotransmissor). No entanto, a excitotoxicidade está relacionada principalmente a alterações desencadeadas pelo glutamato nos níveis de cálcio intracelular¹⁸. Como consequência disso, o receptor NMDA, sendo altamente permeável ao cálcio, foi identificado como o receptor chave (Figura 4)¹⁸.

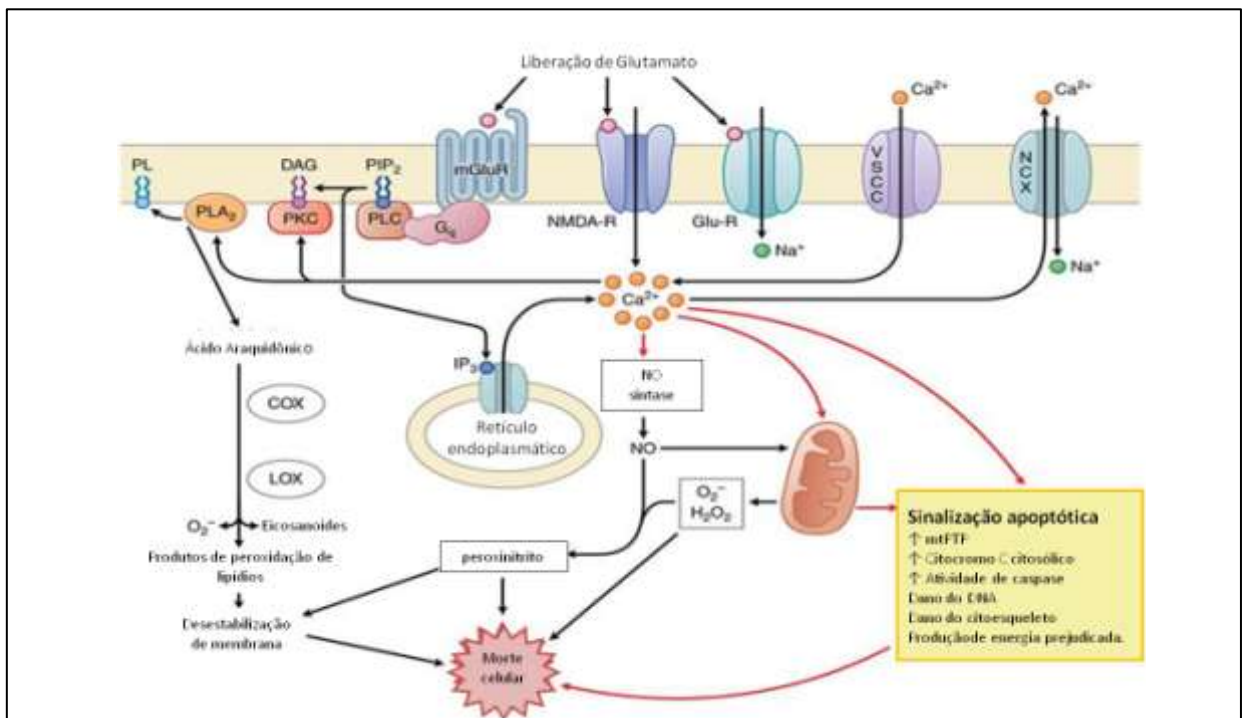
A excitotoxicidade desencadeada pelo glutamato pode ser direta ou indireta. A mediada diretamente é altamente dependente da concentração do NT. Níveis excessivos de glutamato na fenda sináptica causam hiperatividade de sistemas glutamatérgicos e neurotoxicidade, principalmente por excesso de estimulação de receptores NMDA, aumentando a concentração de cálcio intracelular. Além disso, as concentrações altas persistentemente de glutamato nas sinapses estriatais levam a acumulação de glutamato em astrócitos. Este fenômeno ativa micróglia, satura a capacidade do astrócito de tamponar glutamato, reduzindo a atividade da glutamina sintetase, e promove a excitotoxicidade¹⁹.

Diferentemente, a excitotoxicidade indireta (ou lenta) é mediada pela estimulação dos receptores glutamatérgicos na ausência de níveis extracelulares elevados de glutamato. Está associada a qualquer processo que possa comprometer a capacidade de um neurônio de manter o potencial normal da membrana, como os defeitos mitocondriais intrínsecos ou induzidos por toxina. De fato, a despolarização da membrana aumenta a taxa de abertura de canais dependentes de voltagem permeáveis ao cálcio, incluindo os receptores NMDA, ativando assim as vias paralelas associadas à excitotoxicidade¹⁹.

A concentração elevada de cálcio na célula afeta muitos processos, sendo os principais relevantes na neurotoxicidade¹⁷:

- aumento da liberação de glutamato;
- ativação das proteases e lipases, causando lesão da membrana;
- ativação da óxido nítrico sintase: enquanto baixas concentrações de óxido nítrico são neuroprotetoras, concentrações elevadas, na presença de espécies reativas de oxigênio, geram o peroxinitrito e os radicais hidroxila livres, que lesam muitas biomoléculas importantes, incluindo os lipídeos da membrana, as proteínas e o DNA;
- aumento da liberação de ácido araquidônico, que aumenta a produção de radicais livres e também inibe a captação de glutamato e está envolvido na inflamação;
- apoptose.

Figura 4: Mecanismos que contribuem para lesões neuronais.



Várias vias contribuem para a lesão neuronal excitotóxica com excesso de Ca^{2+} citosólico desempenhando um papel precipitante. DAG: diacilglicerol; GluR: tipo AMPA/Cainato de receptores de glutamato; IP₃: trifosfato de inositol; mGluR: receptor metabotrópico de glutamato; NMDA-R: receptor N-metil-D-aspartato; O_2^- : superóxido radical; PIP₂: fosfatidil inositol 4,5-bifosfato; PKC: proteína quinase C; PL: fosfolípidos, PLA₂: fosfolipase A₂; VSCC: canal de Ca^{2+} sensível à voltagem; COX: ciclo-oxigenase; LOX: lipoxigenase; NCX: trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$; mtPTP: poro de transição de permeabilidade mitocondrial. FONTE: Adaptado de GILMAN, A. G. et al.; 2012.

Embora não seja provável que a excitotoxicidade atue como um único agente causador na patogênese da DP, os efeitos mediados pelo glutamato podem contribuir, de forma mais sutil, para os mecanismos que desencadeiam o processo neurodegenerativo no SNC¹⁹.

5.1.3. Estresse oxidativo

O SNC tem uma alta necessidade energética, que é suprida quase inteiramente pela fosforilação oxidativa mitocondrial, gerando ATP e, ao mesmo tempo, reduzindo o O₂ molecular a H₂O¹⁷. Esse processo, sob certas circunstâncias, pode gerar espécies altamente reativas de oxigênio (ROS, do inglês, *reactive oxygen species*), como radicais livres de oxigênio e hidroxilas e H₂O₂ (peróxido de oxigênio). As ROS também podem ser produzidas como produto colateral de outras vias bioquímicas, incluindo a síntese de óxido nítrico e o metabolismo do ácido araquidônico, que estão implicados na excitotoxicidade, bem como a função mista do sistema P450 mono-oxidase¹⁷.

Sem alvos específicos as ROS oxidam enzimas, lipídeos da membrana e DNA, levando a efeitos deletérios às células¹⁷. Como exemplo, os radicais livres O₂⁻ e NO podem se combinar para formar o peroxinitrito, espécie altamente reativa de nitrogênio (ONOO⁻), que pode oxidar proteínas, como a tirosina hidroxilase e a α-sinucleína. A modificação nitrativa dependente de peroxinitrito da tirosina hidroxilase está associada à diminuição da atividade enzimática, enquanto que da α-sinucleína potencializa sua agregação⁹.

Diante dos efeitos deletérios das ROS, não é de se surpreender que existam mecanismos de defesa. Enzimas, como a superóxido dismutase (SOD) e a catalase, bem como antioxidantes, como o ácido ascórbico, a glutatona e o α-tocoferol (vitamina E), normalmente mantêm essas espécies reativas em baixas concentrações. Algumas citocinas, especialmente o fator de necrose tumoral TNF-α – produzido em situações de isquemia cerebral ou de inflamação –, também exercem esse efeito protetor, parcialmente, por aumentar a expressão da SOD¹⁷.

Assim, o estresse oxidativo é o resultado da ROS em excesso¹⁷, na qual os mecanismos de defesa antioxidante celulares são insuficientes para manter o nível abaixo de um limiar tóxico^{21, 81}. Isso é devido a uma sobreprodução de radicais livres

reativos ou a uma falha nos mecanismos de proteção celular^{20, 21}. Essas duas situações parecem participar da fisiopatologia da DP²⁰.

O estresse oxidativo está intimamente ligado a outros componentes do processo degenerativo, como a disfunção mitocondrial, a excitotoxicidade e a neuroinflamação. Por isso, é difícil determinar se o estresse oxidativo leva ou é uma consequência desses eventos ou ambos²².

5.1.4. Disfunção mitocondrial

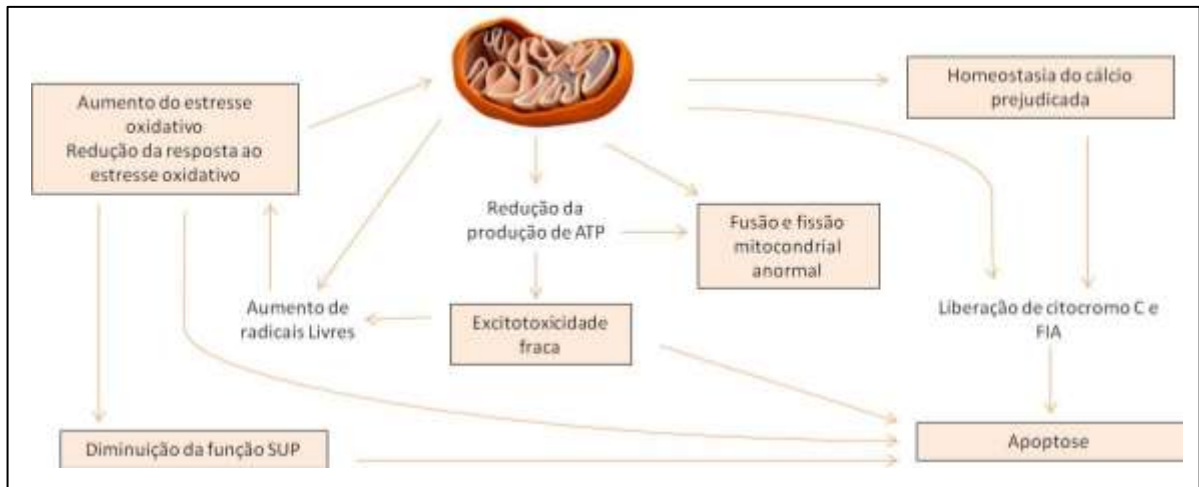
As mitocôndrias são organelas vitais com múltiplas funções e alterações em seu funcionamento são vistas como principal fator em muitas alterações neurodegenerativas. Ela desempenha o papel central no metabolismo energético e sua disfunção pode levar a um declínio na produção de energia, geração de espécies reativas de oxigênio e indução de apoptose induzida pelo estresse^{14, 48}.

Estudos indicam que anormalidade na cadeia de transporte de elétrons pode sujeitar as células ao estresse oxidativo e à falha de energia, podendo desempenhar um papel na patogênese da DP^{14, 48}.

Os danos à mitocôndria também podem levar à liberação de citocromo C no citosol, o que é um estímulo para iniciar a apoptose¹⁴. Além disso, a mitocôndria desempenha um papel crítico na manutenção de baixos níveis de cálcio citosólico, que pode ativar vias de morte programada. Estímulos de baixa intensidade podem causar despolarização mitocondrial levando à indução de autofagia, enquanto sinais de estresse mais intensos podem ativar diretamente a cascata apoptótica. Isso ocorre, em particular, quando o aumento do cálcio intracelular mediado pelo receptor NMDA excede a capacidade de armazenamento de mitocondrial¹⁸.

A disfunção da mitocôndria afeta vários mecanismos celulares que podem provocar a morte celular (Figura 5). Portanto, a integridade dessa organela é essencial para a sobrevivência neuronal⁴⁸.

Figura 5: A disfunção mitocondrial afeta diversos processos celulares que podem culminar na morte celular.



FIA: fator de indutor da apoptose; ATP: adenosina trifosfato; SUP: sistema ubiquitina-proteosomal.

Fonte: HENCHCLIFFE, Claire; BEAL, M. Flint; 2008.

5.1.5. Apoptose

Na apoptose, morte celular programada, as vias de sinalização intracelular são ativadas para causar morte celular. Embora a morte celular programada fisiológica seja crucial durante o desenvolvimento normal e como um mecanismo homeostático em alguns sistemas (ex.: sistema imunológico), a desregulação desta via no cérebro pode contribuir para a neurodegeneração¹⁴.

As vias de morte de células apoptóticas se tornam ativadas na DP através de estresse oxidativo, agregação de proteínas, excitotoxicidade e/ou processos inflamatórios²⁰. Uma hipótese sobre a causa da degeneração dos neurônios dopaminérgicos nigroestriatais é a apoptose devido ao aumento dos níveis de citocinas, proteínas relacionadas à apoptose e/ou a níveis reduzidos de neurotrofinas¹⁵.

Na apoptose a célula é sistematicamente desmantelada e os resíduos são removidos pelos macrófagos sem causar inflamação¹⁷. Porém, na DP há apoptose excessiva¹⁷, devido aos estímulos citados, na qual os macrófagos não conseguem eliminar todos esses resíduos, causando a morte celular, seja por necrose ou induzindo nova apoptose^{14, 17}.

A distinção entre necrose e apoptose, como processos que levam a neurodegeneração não é absoluta, pois desafios como a excitotoxicidade e o estresse

oxidativo podem ser suficientes para destruir as células diretamente ou, se menos intensos, podem induzi-las a sofrer apoptose¹⁷. Assim, a ativação da via de morte celular programada provavelmente representa processos finais na neurodegeneração de DP²⁰.

5.1.6. Formação de aminocromo na oxidação da dopamina à neuromelanina

Na DP há uma perda seletiva de neurônios pigmentados da SN. A substância negra é assim designada devido à presença de pigmentos escuros nos seus neurônios, a neuromelanina (NM). Esse pigmento fica localizado em organelas de dupla membrana que se assemelham a lisossomas pigmentados⁴⁷.

Pensa-se que a NM possa ter, por um lado, um papel neuroprotetor, sequestrando espécies metálicas reativas e compostos orgânicos tóxicos. Porém, por outro lado, ela própria parece desempenhar um papel neurotóxico, podendo ser uma fonte de radicais livres⁴⁷.

A NM pode ser sintetizada enzimaticamente via tirosinase-tirosina hidroxilase-peroxidase ou por auto-oxidação da DA⁴⁷. A auto-oxidação da dopamina a neuromelanina é uma via normal e não tóxica, que requer a oxidação sequencial dessa catecolamina (Figura 6)⁴⁶.

A primeira etapa dessa reação é a oxidação da dopamina a dopamina *o*-quinona, um composto estável em pH inferior a 2,0. Em condições citosólicas, pH menos ácido, a dopamina *o*-quinona cicliza imediatamente em duas etapas para aminocromo⁴⁶. O aminocromo é capaz de formar adutos com α -sinucleína, gerando e estabilizando protofibrilas neurotóxicas^{46,80}, e pode ser reduzido ao radical leucoaminocromo *o*-semiquinona altamente reativo com oxigênio, formando radicais superóxidos. Ele também pode induzir (i) disfunção mitocondrial; (ii) a formação de oligômeros neurotóxicos de alfa-sinucleína; (iii) estresse oxidativo; (iv) autofagia e disfunção lisossômica; (v) disfunção proteossômica; (vi) estresse do retículo endoplasmático; (vii) ruptura do citoesqueleto induzindo a agregação de actina e tubulina; (viii) inibição da formação de microtúbulos e (ix) morte celular apoptótica. Esses fatores podem gerar, direta ou indiretamente, a neuroinflamação⁴⁶,

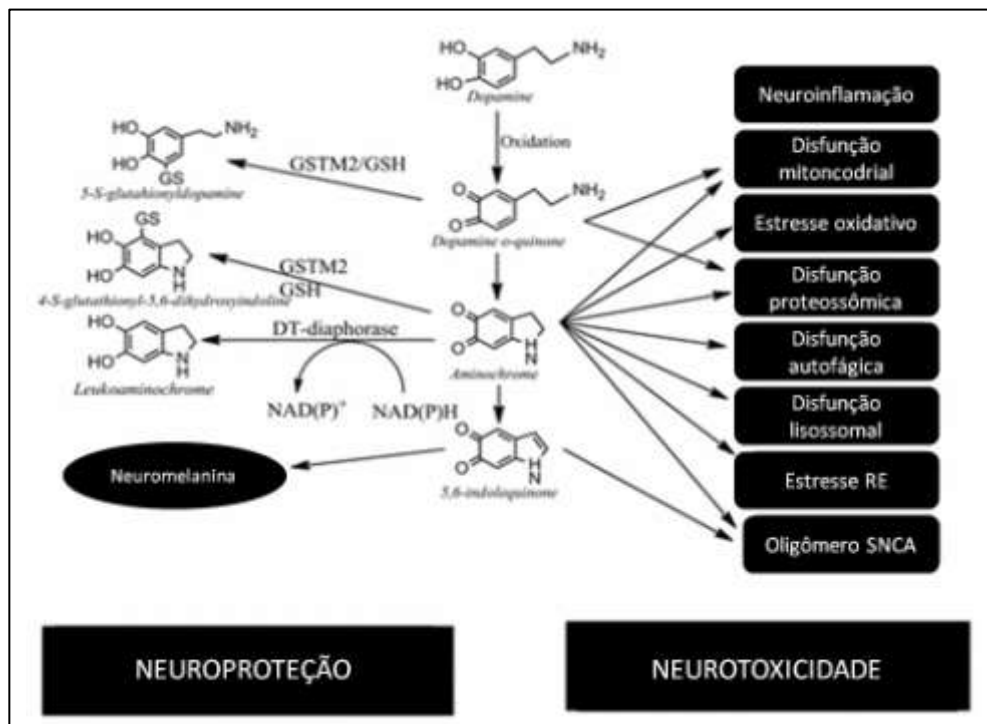
Os indivíduos saudáveis, mesmo com a formação de aminocromo, possuem neurônios dopaminérgicos contendo neuromelanina intactos. Isso ocorre, pois a neurotoxicidade induzida por essa substância é prevenida por duas enzimas: DT-

diaforase e glutatona transferase M-2 (GSTM2) que catalisam reações que formam substância atóxicas (Figura 6)⁴⁶.

A conversão do aminocromo para formar NM é uma reação mais lenta. Ele se transforma em 5,6-indolequinona que polimeriza para a neuromelanina. A 5,6-indolequinona é a unidade básica a partir da qual este polímero pigmentado é formado⁴⁶.

A 5,6-indolequinona pode formar dutos com alfa-sinucleína *in vitro*, impedindo a formação de neuromelanina, mas não se sabe se esses oligômeros são neurotóxicos⁴⁶. Já a NM possui grande capacidade de ligação a metais como o ferro, cobre e zinco, sendo um sistema de defesa contra o aumento da concentração desses. Contudo, a NM liberada por neurônios em degeneração pode levar à ativação da micróglia, liberando-se moléculas citotóxicas que podem danificar outros neurônios, exacerbando o processo neurodegenerativo⁴⁷.

Figura 6: Oxidação da dopamina à neuromelanina.

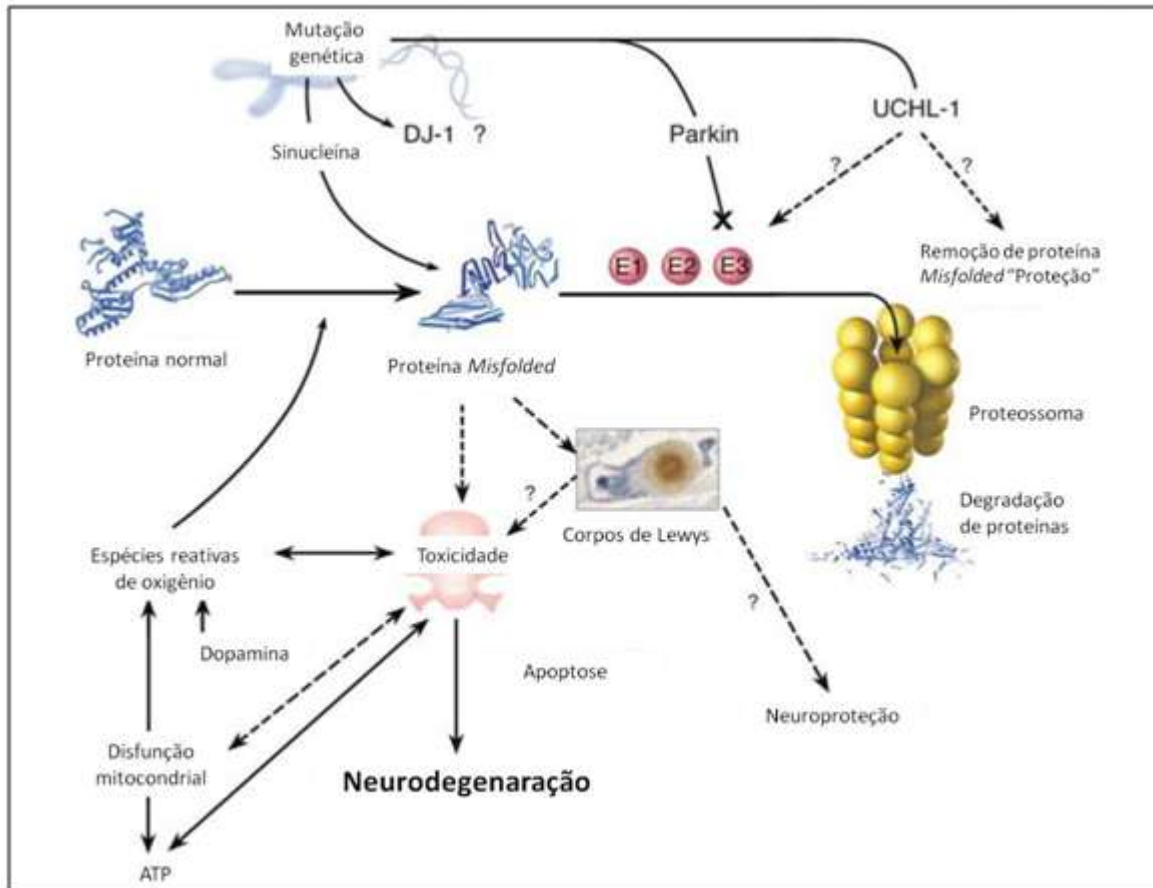


RE: retículo endoplasmático SNCA: α -sinucleína. Fonte: HERRERA, Andrea et al.; 2017.

Atualmente, é amplamente aceito que a degeneração de neurônios dopaminérgicos na SNpc envolve a disfunção mitocondrial, a formação de

oligômeros neurotóxicos, a disfunção de sistemas de degradação de proteínas, a neuroinflamação e o estresse oxidativo (Figura 7)⁴⁶.

Figura 7: Fatores que levam a toxicidade neuronal.



As muta es patog nicas podem induzir diretamente conforma es de proteínas anormais ou danificar a capacidade da maquinaria celular para detectar e degradar proteínas dobradas (Parkin, UCH-L1). O papel do DJ-1 continua a ser pesquisado. O dano oxidativo, relacionado   disfun o mitocondrial e ao metabolismo anormal da dopamina, também pode promover conforma es de proteína mal dobradas. Não está claro se as proteínas mal dobradas causam diretamente a toxicidade ou danificam células através forma o de agregados proteicos (corpo de Lewy). O estresse oxidativo, a crise energética (ou seja, a deple o de ATP) e a ativa o da maquinaria de morte celular programada também são fatores que desencadeiam a morte de neurônios dopaminérgicos na DP. Fonte: DAUER, William; PRZEDBORSKI, Serge; 2003.

5.1.7. Neuroinflama o

A neuroinflama o pode ser uma consequência da neurodegenera o, no entanto, algumas linhas de evidência sugerem que a inflama o também pode estar envolvida no processo de morte neuronal⁹.

A resposta inflamatória cerebral nas doenças neurodegenerativas foi identificada há muito tempo, mas foi negligenciada na DP⁶. Elas não foram extensivamente estudadas, especialmente do ângulo molecular, e muitas vezes só foram pensadas como secundárias e insignificantes²⁴. Porém, imagens clínicas humanas, exames pós-morte e estudos epidemiológicos recentes sugerem que a inflamação crônica cerebral pode ser um fator estressor para causar degeneração progressiva de neurônios dopaminérgicos²⁵.

Atualmente, a neuroinflamação tem sido cada vez mais reconhecida como um mecanismo primário envolvido na patogênese da DP²⁰. Esposito e colaboradores⁵² apresentaram evidências do envolvimento de neuroinflamação e ativação microglial na patogênese da DP em diversos estudos, quadro 1⁵².

Quadro 1: Evidência de inflamação na DP - Dados em humanos

Estudo	Evidência de pacientes com DP
McGeer et al., 1988	Regulação de moléculas de MHC nos cérebros.
Mogi et al., 1994 a, b	Aumento do nível de TNF- α , no estriado e LCE.
Mogi et al., 1995	Aumento dos níveis de β 2-microglobulina, da cadeia leve do MHC, em estriado.
Blum-Degen et al., 1995	Aumento dos níveis de IL- β 1 e IL-6 no LCE.
Rowe et al., 1998	Presença de reatividade de anticorpos para proteínas modificadas com quinonas.
Langston et al., 1999	Presença de gliose e agrupamento de micróglia em torno de células nervosas em parkinsonismo induzido por MPTP em humanos.
Mirza et al., 2000	Ausência de astrocitose reativa no processo inflamatório nas autópsias de DP.
Knott et al., 2000	Regulação ascendente da micróglia ameboidada contendo óxido nítrico sintase e ciclo-oxigenase-1 e -2.
Knott et al., 2002	Regulação de neurotrofinas gliais (BDNF, NT-3) em resposta a sinais liberados de neurônios nigrais em falha.
McGeer et al., 2002	Associação de polimorfismos IL- β 1 com DP idiopática.
Imamura et al., 2003	O número de micróglia ativada é maior não apenas no SN e no putâmen, mas também no hipocampo, no córtex transentorrenal, no córtex cingulado e no córtex temporal na DP.
Ouchi et al., 2005	Alterações paralelas na ativação microglial e perda terminal dopaminérgica correspondente na via nigrostriatal afetada na DP precoce.
Ishida et al., 2006	Aumento da expressão de PAR-1 em astrocitos em SNpc de DP cérebro.

Fonte: ESPOSITO, Ennio, et al. 2007.

A neuroinflamação é um mecanismo inerente de defesa do hospedeiro para proteger e restaurar a estrutura e a função normais do cérebro contra infecções e

lesões²⁶. Em doenças neurodegenerativas, a neuroinflamação, inicialmente, está envolvida no controle do estímulo causador para evitar e/ou amenizar a gravidade e progressão do problema que esse pode causar. Porém, a inflamação crônica, característica de quase todas as alterações neurodegenerativas, induz efeitos citotóxicos que aumenta a gravidade e os sintomas da doença²⁷.

No cérebro, a inflamação é mediada principalmente por astrócitos residentes e micróglia ativada presente no parênquima do SNC^{6, 25}. A resposta imune inata associada à gliose, em particular a ativação de células microgliais, é uma característica neuropatológica importante da doença de Parkinson⁹.

A micróglia exerce um importante papel na imunovigilância do cérebro, mas diferente dos macrófagos de tecidos periféricos, suas ações têm que ser finamente controladas para que a resposta inflamatória não seja danosa ao SNC¹⁵.

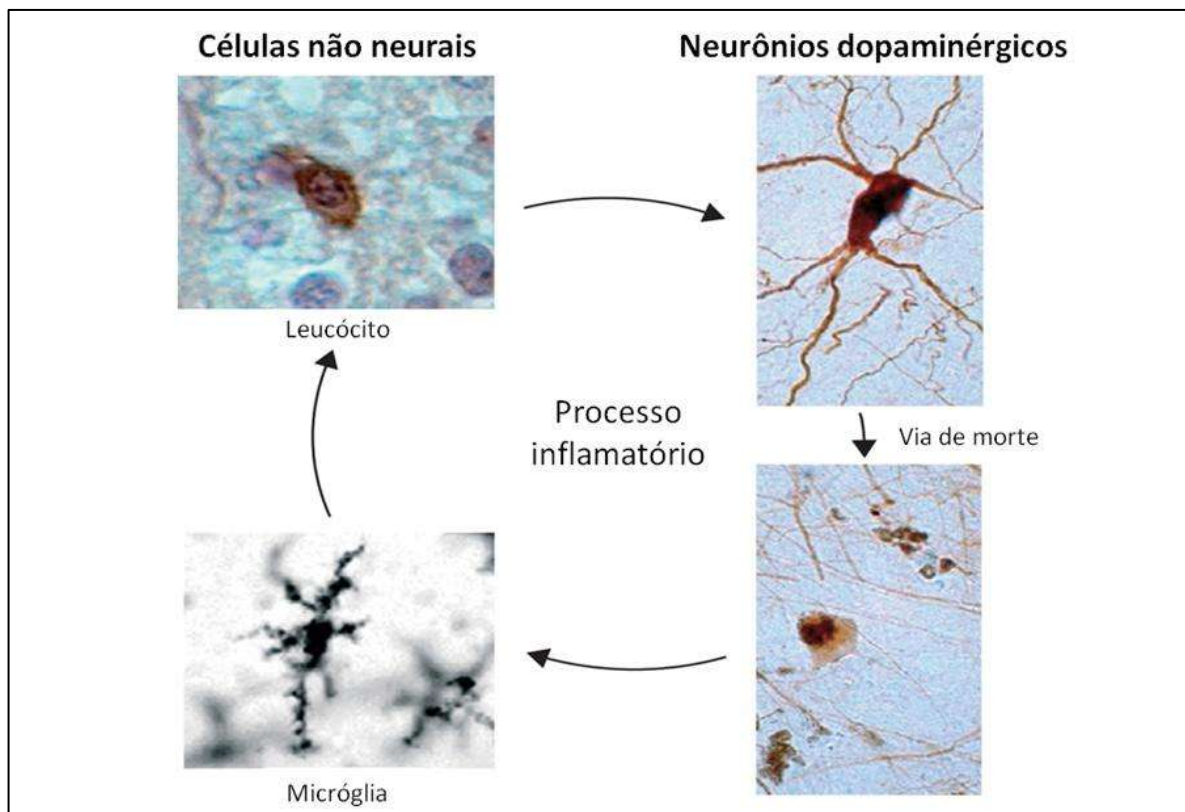
Inicialmente, a micróglia ativada exibe níveis elevados de reatividade de imunoglobulina G (IgG), expressa vários receptores¹⁰ e moléculas de adesão que podem entrar em replicação aumentando em número. Posteriormente, se o estímulo persistir, pode adquirir capacidade de célula apresentadora de antígenos, fagocítica e pró-inflamatória, por meio da secreção de citocinas e quimiocinas – fator de necrose tumoral (TNF); interleucina 1, 6, 8 (IL-1, IL-6, IL-8)⁶.

O desequilíbrio entre sinais pró e anti-inflamatórios pode favorecer um processo inflamatório crônico, com continuada ativação da micróglia. Nestas condições, a micróglia além de produzir citocinas pró-inflamatórias, passa a secretar espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS), óxido nítrico (NO) e prostaglandinas (PG), todos tóxicos para os neurônios^{6, 25}.

A ativação da micróglia se dá por estímulos inflamatórios imunológicos (infecções virais ou bacterianas); lesões neuronais (trauma cerebral ou acidente vascular cerebral)^{6,8,25}; outros fatores epigenéticos, síndromes inflamatórias crônicas (artrite, aterosclerose, doença de Crohn e esclerose múltipla) e toxinas ambientais como MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina), paraquat, rotenona, material particulado, metais pesados e compostos organofosforados⁸. Além desses, outros processos celulares e moleculares, agregação de proteínas, excitotoxicidade, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e desregulação da apoptose também ativam a micróglia no SNC¹⁰. Todos esses estímulos podem causar a desregulação ou ativação glial excessiva resultando na morte neuronal dos neurônios dopaminérgicos da substância negra^{6, 25, 28}.

A morte neuronal contribui para um ciclo neuroinflamatório que se retroalimenta, uma vez que os neurônios dopaminérgicos atingidos liberam moléculas como agregados de α -sinucleína, ATP, metaloproteinase-3 de matriz (MMP-3), neuromelanina e lipopolissacarídeo que também ativam a micróglia (Figura 8)^{8, 10}.

Figura 8: Papel hipotético de mecanismos celulares na degeneração dopaminérgica na doença de Parkinson.



As células nervosas dopaminérgicas envolvidas em um processo de morte desencadeiam a ativação de células gliais, particularmente células microgliais, que instigam processos inflamatórios no local da lesão neuronal. A imunidade inata do SNC mediada por células microgliais reativas pode contribuir para o recrutamento cerebral de leucócitos periféricos (principalmente células T), o que, por sua vez, contribui para a resposta inflamatória desequilibrada. Esse ciclo contínuo poderia amplificar ou perpetuar a neurodegeneração na doença de Parkinson. Fonte: HIRSCH, Etienne C.; HUNOT, Stéphane; 2009.

A produção e liberação de produtos tóxicos derivados de oxigênio e derivados de nitrogênio pode ser um cenário para um mecanismo de morte celular. Em geral, um ambiente oxidativo tóxico pode ser criado por células gliais ativadas próximas

aos neurônios dopaminérgicos, o que provavelmente representa a maior parte do papel deletério da reação inflamatória em síndromes parkinsonianas⁹.

Outro importante componente inflamatório potencialmente envolvido na neurodegeneração na doença de Parkinson é a ciclo-oxigenase 2 (COX-2), uma enzima chave que sintetiza prostaglandinas durante o processo inflamatório. Na neuroinflamação observa-se aumento da expressão da COX-2 e concentrações elevadas de prostaglandina E₂ (PGE₂)²⁹.

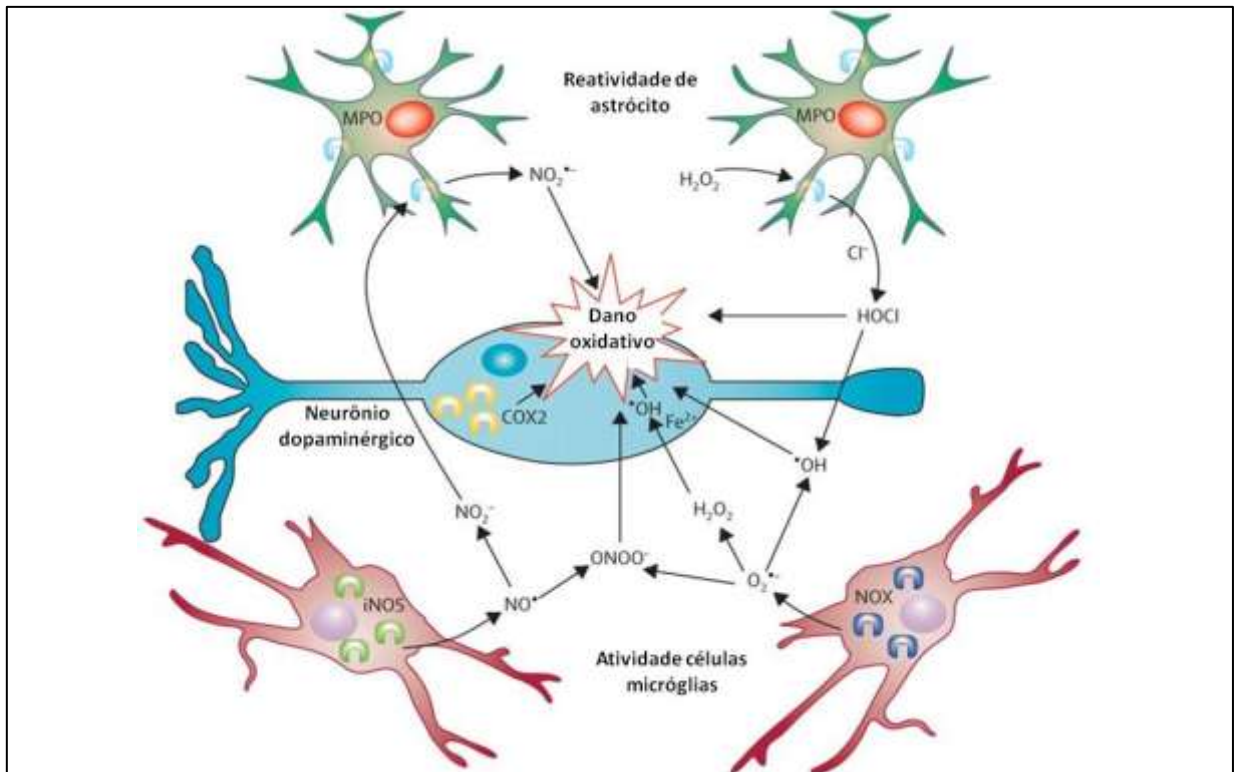
A citotoxicidade da COX-2 na DP deriva das propriedades inflamatórias dos prostanóides, mas também dos mecanismos de danos oxidativos através da formação de espécies reativas de oxigênio geradas durante a peroxidação da prostaglandina G₂ para a prostaglandina H₂. Assim, ela agrava o processo degenerativo através de mecanismos pró-inflamatórios e geração de ROS^{8, 9, 39}.

Portanto, o estresse oxidativo associado à inflamação pode participar da morte celular dopaminérgica, tanto de forma autônoma celular quanto não autônoma de células (Figura 9)⁹.

Citocinas inflamatórias também são importantes mediadores da inflamação nociva. Entre elas o TNF α , IL- β 1 e interferon γ tiveram muita atenção em relação aos processos neuroinflamatórios na DP⁹.

Em princípio, dois mecanismos poderiam explicar a neurotoxicidade desses compostos: um mecanismo direto através da ligação ao receptor nos neurônios dopaminérgicos ou um mecanismo indireto através da ativação das células gliais e expressão de fatores inflamatórios (Figura 10)⁹. O TNF α pode ativar diretamente os receptores 1 de TNF expressos na superfície celular em neurônios dopaminérgicos, ativando uma via de morte celular pró-apoptótica. Os caminhos transduzidos por ativação do receptor TNF 1 estão ligados à expressão induzida de COX-2 nos neurônios dopaminérgicos⁹. Adicionalmente, essas citocinas também podem estimular a expressão de iNOS em células microgliais, e possivelmente astrocíticas, através da expressão e ativação do receptor de baixa afinidade da imunoglobulina E (CD23). Este processo pode levar à produção de quantidades tóxicas de radicais livres de NO, que por sua vez, poderiam potencializar a expressão e liberação de TNF α por células microgliais adjacentes, contribuindo assim para ampliação da reação inflamatória⁹.

Figura 9: Possível ligação entre os processos neuroinflamatórios e o dano oxidativo aos neurônios dopaminérgicos na doença de Parkinson.



Sob condições patológicas, as células microgliais se ativam e expressam iNOS, levando à produção e liberação de radicais livres NO. Estas células têm também regulada positivamente a expressão e a ativação da NADPH oxidase, que conduz à produção de grandes quantidades de $O_2^{\cdot-}$. Por sua vez, os $O_2^{\cdot-}$ e NO podem reagir para gerar o $ONOO^{\cdot-}$ altamente reativo, que pode causar danos oxidativos para várias proteínas dentro de neurônios dopaminérgicos. No entanto, radicais $O_2^{\cdot-}$ podem também reagir com H_2O e formar H_2O_2 , que na presença de uma alta concentração de ferro livre, pode dar origem ao radical OH^{\cdot} altamente reativo, causando dano oxidativo à célula neuronal. Astrócitos reativos expressam concentrações aumentadas de mieloperoxidase, que produz HOCl a partir de H_2O_2 e Cl^- . HOCl pode causar diretamente danos oxidativos a neurônios dopaminérgicos através, por exemplo, de conversão de amina em cloramina. No entanto, HOCl também pode aumentar a quantidade de radicais OH, nocivos quando HOCl reage com $O_2^{\cdot-}$. A mieloperoxidase pode catalisar a conversão de NO_2^- para o $NO_2^{\cdot-}$ (mais reativo), que, por sua vez, também pode contribuir para o dano oxidativo das proteínas. Além desses mecanismos não autônomos celulares de morte de células neuronais, o estresse oxidativo associado a inflamação também pode se originar dos neurônios dopaminérgicos danificados através da expressão de COX2. COX2 = ciclo-oxigenase 2. iNOS = óxido nítrico sintase induzível. MPO = mieloperoxidase. Fonte: HIRSCH, Etienne C.; HUNOT, Stéphane; 2009.

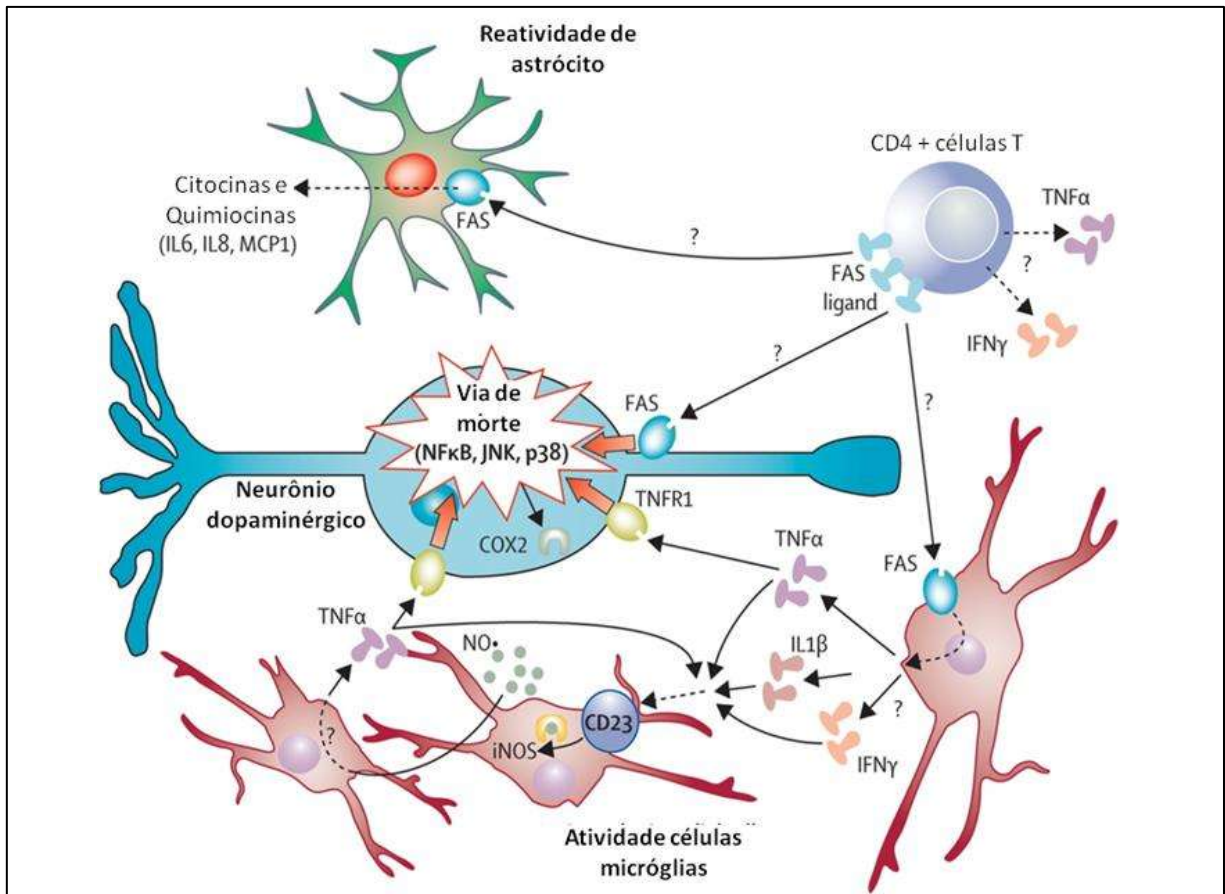
A reação inflamatória microglial pode contribuir para o recrutamento cerebral de células T $CD4^+$ ativadas próximas a neurônios dopaminérgicos. Essas células T

podem expressar e liberar vários fatores inflamatórios, como TNF α , INF- γ e ligando Fas. O ligando Fas, uma molécula de superfície celular da família TNF α expressado principalmente em células T ativadas, pode ativar o receptor Fas e induzir apoptose em células que expressam Fas ou estimular a ativação de astrócitos e a liberação de fatores inflamatórios adicionais (citocinas e quimiocinas). A expressão de Fas é aumentada em pacientes com doença de Parkinson⁹.

A consequência prejudicial da ativação da via do ligando Fas no parkinsonismo foi recentemente estabelecida por vários pesquisadores⁹. Ainda é incerto se essa via inflige toxicidade direta nos neurônios dopaminérgicos ou indiretamente estimulando a produção de fatores inflamatórios derivados de ativação glial. No entanto, a ativação de caminhos de sinalização associados à morte possivelmente ligados ao receptor Fas e TNF 1 nos neurônios dopaminérgicos foi relatada⁹.

Embora a micróglia seja o principal mediador das respostas neuroinflamatórias, os astrócitos e os oligodendrócitos também podem participar do processo. Os astrócitos fornecem controle homeostático do ambiente extracelular no SNC, regulando a recaptação de glutamato^{10,30}, e podem ser ativados por produtos químicos, danos físicos ou isquemia em um processo chamado gliose reativa^{10,31}. A ativação de oligodendrócitos resulta na secreção de moléculas inflamatórias, como o NO, citocinas e prostaglandinas e, sobretudo, na regulação positiva de vários proteoglicanos de sulfato de condroitina, incluindo NG2, o que contribui para o ambiente inibidor de crescimento que prejudica a regeneração de axônios no SNC lesionado^{10, 31}.

Figura 10: Possíveis mecanismos subjacentes às consequências deletérias dos processos neuroinflamatórios na doença de Parkinson.



As células microgliais ativadas podem contribuir para a morte celular dopaminérgica, liberando compostos inflamatórios citotóxicos tais como citocinas pró-inflamatórias (TNF α , interleucina 1 β e INF- γ). A reação inflamatória microglial dependente pode contribuir para o recrutamento cerebral de células T CD4⁺ ativadas perto de neurônios dopaminérgicos. Essas células T podem expressar e liberar vários fatores inflamatórios, como TNF α , interferon γ e Fas ligando. O ligando Fas derivado de linfócitos medeia a lesão neuronal dopaminérgica induzida por células T. COX2 = ciclo-oxigenase 2. IL = interleucina. iNOS = sintase de óxido nítrico induzível. MCP = proteína quimioatática para monocitos. NF κ B = fator nuclear κ B. NO = óxido nítrico. TNF = fator de necrose tumoral. TNFR = receptor do fator de necrose tumoral. Fonte: HIRSCH, Etienne C.; HUNOT, Stéphane; 2009.

Alguns mediadores secretados com a ativação glial têm atividades neuroprotetoras e tróficas e auxiliam no processo de reparo. Por exemplo, as citocinas pró-inflamatórias são essenciais não apenas para a ativação das células gliais, mas também para regular a secreção de mediadores inflamatórios de forma positiva⁹. Outros mediadores aumentam o estresse oxidativo e desencadeiam cascatas apoptóticas¹⁰.

6. PROSTANOIDES NA NEUROINFLAMAÇÃO

Uma das formas de indução da neuroinflamação é por meio da sinalização do ácido araquidônico, com a síntese de eicosanoides através da ativação das vias de ciclo-oxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX)¹⁰. A resposta inflamatória é inevitavelmente acompanhada da liberação desses eicosanoides, que desempenham papéis pró e anti-inflamatórios e estão entre os mediadores mais importantes nessa resposta^{12, 17}.

A biossíntese de eicosanoides é limitada pela disponibilidade dos substratos e depende, principalmente, da liberação de AA. Geralmente, um processo de etapa única catalisado pela enzima fosfolipase A₂, embora algumas vezes seja utilizado um processo de múltiplas etapas envolvendo fosfalipases C ou D em conjunto com a diacilglicerol lipase^{12, 17}.

Depois de liberado, parte do AA é metabolizado rapidamente em produtos oxigenados por vários sistemas enzimáticos diferentes, incluindo COX, LOX e CYP. Os metabólitos gerados são os eicosanoides nos quais os principais são as prostaglandinas (PG), os tromboxanos (TXA) e os leucotrienos (LT). Outros derivados do araquidonato também são produzidos, como as lipoxinas. Porém, os prostanoides, termo que será utilizado para abranger tanto as prostaglandinas quanto os tromboxanos, possuem maior importância nesse trabalho^{12, 17}.

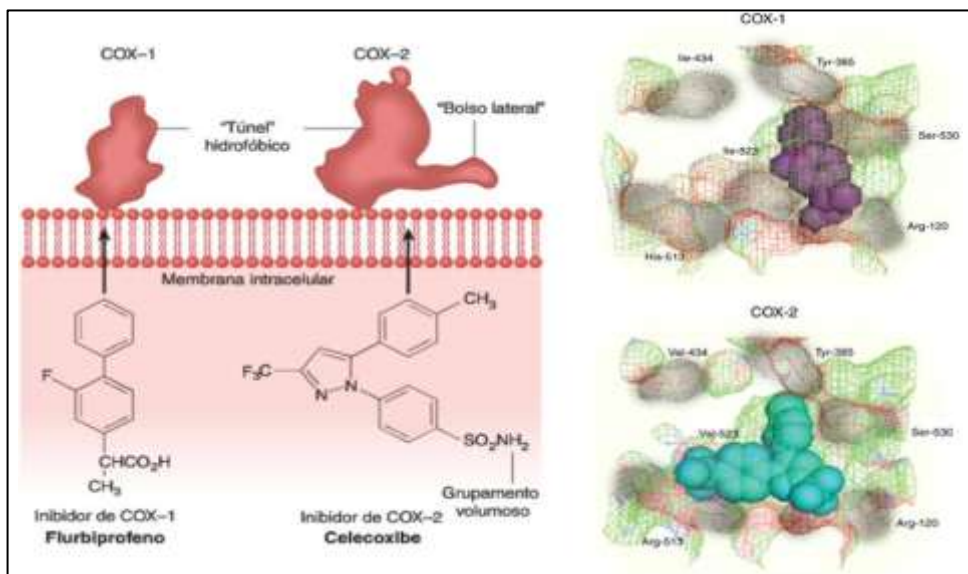
A primeira enzima na via sintética dos prostanoides é a COX, conhecida também como PG G/H sintase. Essa enzima apresenta isoformas denominadas COX-1, COX-2 e COX-3. A COX-1 é expressa constitutivamente na maioria das células e a fonte dominante, mas não exclusiva, de prostanoides para funções fisiológicas como a de manutenção e citoproteção epitelial gástrica e hemostasia. A COX-2 é expressa nas células ao ser induzida por citocinas e moléculas pró-inflamatórias e em resposta a fatores de crescimento durante a inflamação e é a fonte mais importante de prostanoides durante a resposta inflamatória³⁹. A COX-3, que é uma derivação da COX-1, produzida a partir do gene COX-1, compartilha todas as características catalíticas e importantes características estruturais da COX-1 e 2 e é expressa mais abundantemente no córtex cerebral e no coração³⁵. Essas enzimas contribuem para a geração de prostanoides autorreguladores e homeostáticos e de prostanoides nas síndromes de inflamação e dor.¹⁷ No SNC,

diferentes da maioria dos tecidos que a COX-1 parece ser a única isoforma constitutivamente expressa, tanto a COX-1 como a COX-2 são expressas em condições fisiológicas^{10, 39}.

Embora se saiba muito sobre os papéis das duas isoformas COX nos tecidos periféricos, apenas recentemente começaram a obter informações sobre seus papéis no SNC. A maioria das células no SNC tem a capacidade de expressar ambos tipos de COX³⁹. Em circunstâncias específicas, a COX-1 foi identificada em neurônios piramidais e granulares, células do hipocampo, córtex, amígdala e em um grande número de núcleos subcortais. Já a COX-2 é mais prevalente no córtex do que em estrutura subcortical. Os neurônios são entre os poucos tipos de células no corpo onde a atividade COX-2 é observada em condições basais.³⁹ Além de neurônios, células da glia, incluindo micróglia e astrócitos, também expressam ambas isoformas de COX⁴³.

A COX-1 e a COX-2 são glicoproteínas integrais de membrana que possuem um grupo heme em forma de hemodímeros anexados a membrana intracelular e envolvido nas atividades enzimáticas³⁹. As isoformas são estruturalmente semelhantes, ambas contêm um canal hidrofóbico no qual o AA ou outros substratos de ácidos graxos se ancoram para que a reação de oxigenação possa ocorrer.⁴³ A COX-2 possui uma bolsa lateral grande no canal de ligação do AA comparado com a COX-1 (Figura 11)¹².

Figura 11: Estrutura da COX1 e COX2.

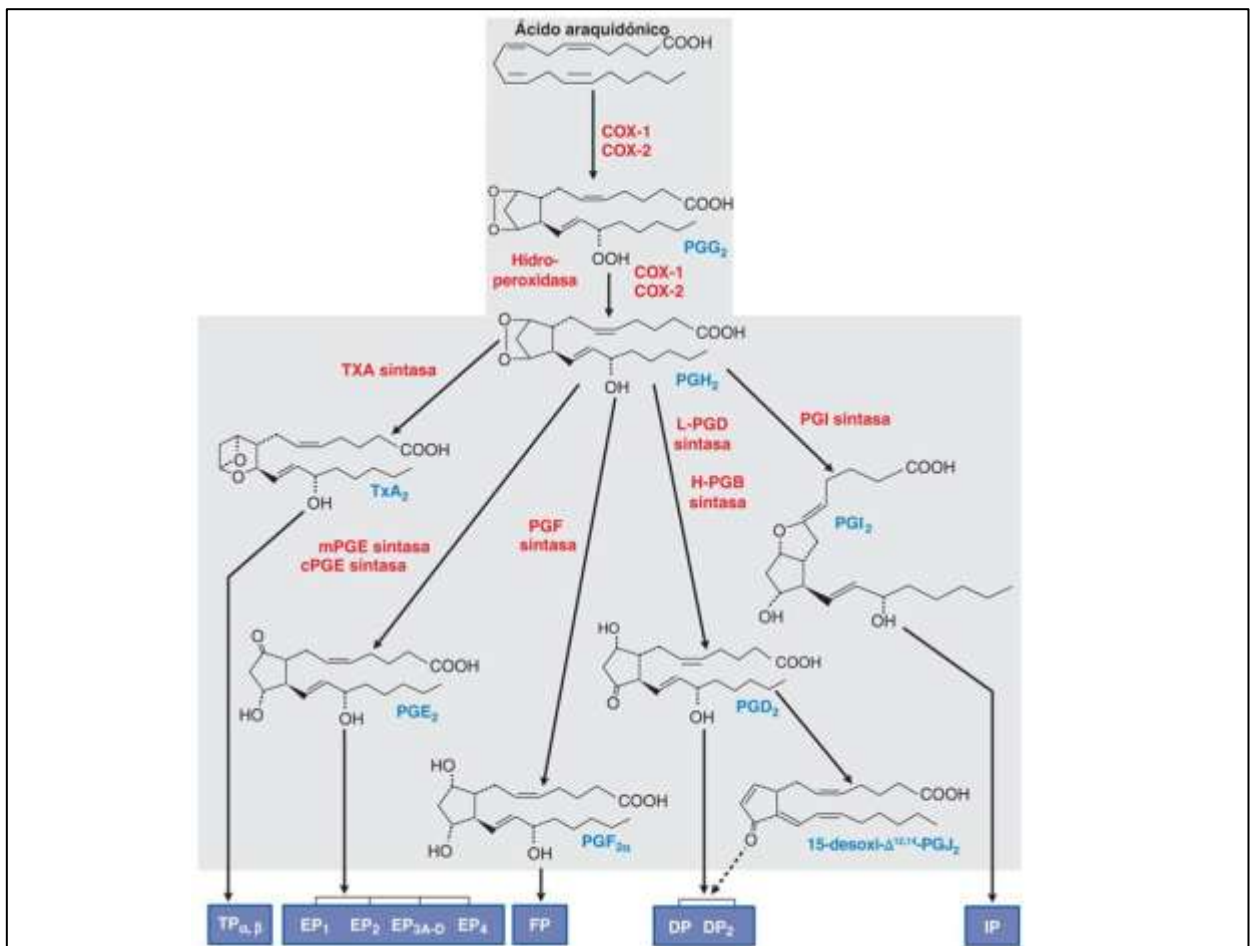


Fonte: RANG, H. P. et al., 2012 e GILMAN, A. G. et al., 2014

Ambas as enzimas exibem duas atividades catalíticas. Uma atividade de bis-oxigenase (ciclo-oxigenase), que incorpora duas moléculas de oxigênio em cada molécula de araquidonato, formando PGG_2 e uma atividade de peroxidase, que reduz PGG_2 a PGH_2 ³⁹. A atividade da peroxidase também resulta na produção espécies reativas de oxigênio, que são parcialmente utilizados pela própria COX e danosas para SNC^{8, 39}.

A PGH_2 , por ação das isomerases e as sintases, rapidamente é transformada em prostanoides terminais, diferenciados pela substituição dos anéis de ciclopentano, dando origem a prostaglandinas (PGD_2 ; PGE_2 ; $\text{PGF}_2\alpha$ e a prostaciclina PGI_2) e tromboxanos (TxA_2), principais produtos finais bioativos dessa reação (Figura 12)^{12,17}.

Figura 12: Formação de prostanoides pela via da COX.



O endoperóxido cíclico PGG_2 e PGH_2 originam-se das ações sequenciais da ciclo-oxigenase (COX1 e COX2) e da hidropoxidase sobre o AA liberado pelos fosfolípidos de membrana. Os produtos subsequentes são gerados por sintases específicas de tecido e transduzem seus efeitos através de receptores ligados à membrana (caixas azuis). Fonte: GILMAN, A. G. et al. adaptado; 2012.

Além da formação de prostanoídes, a COX-2 demonstrou catalisar a oxidação da DA citosólica^{10, 36} e sua expressão é regulada positivamente nos neurônios e astrócitos em resposta à lesão do SNC^{10, 37}.

Na inflamação, a micróglia ativada produz grandes quantidades de PGE₂, que predomina, PGD₂ e PGI₂, que atuam como potentes reguladores locais de vias fisiológicas e patológicas ligados à neuroinflamação⁴⁹. Em áreas de inflamação aguda, a PGE₂ e a PGI₂ são produzidas por tecidos e vasos sanguíneos locais, enquanto os mastócitos liberam principalmente PGD₂. Já na inflamação crônica, as células da série monócitos/macrófagos também liberam PGE₂ e TXA₂¹⁷.

A PGE₂ pode induzir efeito tóxico intraneuronal diretamente nos neurônios dopaminérgicos^{10, 38} ou induzir neuroproteção dependendo do tipo de célula e do receptor que ele ativa⁴⁹.

PGD₂ é a prostaglandina mais abundante no cérebro e seu papel na DP está sendo investigado. Existe estudo que evidencia que na DP há alterações significativas nas isoformas de L-PGDS (Lipocalina prostaglandina D sintase), uma das proteínas mais abundantes produzidas no cérebro e responsável por converter PGH₂ em PGD₂⁴⁹.

A PGJ₂ e os compostos semelhantes que resultam da desidratação da PGD₂ são altamente tóxicos⁴⁹, induzem o estresse oxidativo, causando diminuição da atividade da glutatona e da glutatona peroxidase, diminuição do potencial de membrana mitocondrial e superprodução de produtos de peroxidação lipídica ligados a proteínas. Esses efeitos sugerem que as prostaglandinas da série J₂ são uma fonte de geração de ROS significativamente aumentada ou moduladores de sensibilidade ROS¹⁰.

As ações farmacológicas mais notáveis dos prostanoídes estão relatadas no quadro 2.

Quadro 2: Prostaglandinas e seus efeitos atuando nos diferentes receptores

PGs	Receptores que agem as PGs	Ação
PGD2	DP (1 e 2)	Vasodilatação, Inibição da agregação plaquetária, Relaxamento da musculatura gastrointestinal e uterina, Liberação de hormônios hipotalâmicos/ hipofisários.
	TP	Broncoconstritor.
PGE2	EP1	Contração do músculo liso brônquico (broncoconstrição) e gastrointestinal.
	EP2	Broncodilatação, Vasodilatação, Estímulo das secreções intestinais, Relaxamento da musculatura lisa gastrointestinal.
	EP3	Contração do músculo liso intestinal, Inibição da secreção de ácido gástrico, Aumento da secreção gástrica de muco, Inibição da lipólise, Inibição da liberação de neurotransmissores autônomos, Estímulo da contração uterina em grávida.
PGF2 α	FP	Contração do miométrio.
PGI2	IP	Aumento da permeabilidade e fluxo sanguíneo, Vasodilatação, Inibição da agregação plaquetária, Liberação de renina e natriurese através de seus efeitos de reabsorção tubular de Na ⁺ .
TxA2	TP	Agregação plaquetária, Vasoconstrição, Broncoconstrição.

Fonte: GILMAN, A. G. et al. e RANG, H. P. et al.

7. REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS

Uma forma para acelerar a descoberta de medicamentos para o tratamento de doenças é encontrar novos usos para fármacos já no mercado – usos que não foram apreciados no momento do desenvolvimento original. Essa estratégia é denominada "reposicionamento de drogas" ou "reorientação de drogas" e se tornou mais popular entre as empresas farmacêuticas^{25, 51}.

O reposicionamento de fármacos é o processo de encontrar uma nova indicação para um medicamento ou composto. Assume-se que a nova indicação é

distinta da indicação já aprovada/pretendida do produto original, em que "distinto" implica uma indicação anatômica e/ou terapeuticamente diferente à 10ª edição da Classificação Internacional de Doenças (CID - 10). A situação em que a nova indicação envolve um alvo farmacológico diferente (reposicionamento fora do alvo) é a única exceção em que um novo uso em uma indicação semelhante será coberto pela definição atual⁶⁸.

O produto original candidato ao reposicionamento de drogas deve se encaixar em uma das seguintes categorias⁶⁸:

a) Drogas que nunca foram comercializadas:

- Drogas em desenvolvimento clínico.
- Drogas finalizadas, mas com desenvolvimento clínico falido ou negativo devido ao perfil de baixa eficácia.
- Drogas que não foram completamente desenvolvidas, particularmente de instituições acadêmicas e laboratórios do setor público.

b) Drogas que são ou foram comercializadas:

- Medicamentos que foram comercializados, mas descontinuados por razões comerciais.
- Medicamentos que foram comercializados, mas descontinuados por razões de segurança e saúde pública.
- Medicamentos comercializados para os quais os direitos de propriedade intelectual ainda estão em vigor.
- Medicamentos comercializados nos quais as patentes já expiraram ou quando as versões genéricas já estão disponíveis no mercado.

Para as indústrias farmacêuticas o reposicionamento tem um valor comercial significativo à medida que estende os mercados de um composto já comercializado e encontra novos usos para compostos arquivados⁶⁹. Para a população, o reposicionamento gera um ganho nas descobertas mais rápidas de novos tratamentos de doenças.

7.1. NOVOS FÁRMACOS *versus* REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS

O desenvolvimento de um novo medicamento demanda vários anos de estudos que vão desde a bancada de laboratório até a fase IV de um estudo clínico. Essa trajetória para registro de um medicamento demanda longo tempo, possui baixa taxa de sucesso, além de um custo alto para indústria^{50, 70}.

Os esforços combinados dos setores públicos e privados de P&D em todo o mundo trazem apenas cerca de cinco drogas com mecanismos completamente novos com sucesso para comercializar a cada ano⁵¹.

O tempo necessário para desenvolvimento para novas moléculas aprovadas pela FDA (agência dos EUA equivalente à ANVISA no Brasil), desde o início dos testes clínicos até a aprovação regulatória é de, aproximadamente, 15 anos. Há uma variação considerável entre as diferentes classes terapêuticas. Por exemplo, os tempos de desenvolvimento clínico para agentes antivirais de combate a AIDS é relativamente curto comparado ao período longo para agentes antineoplásicos^{70, 71}.

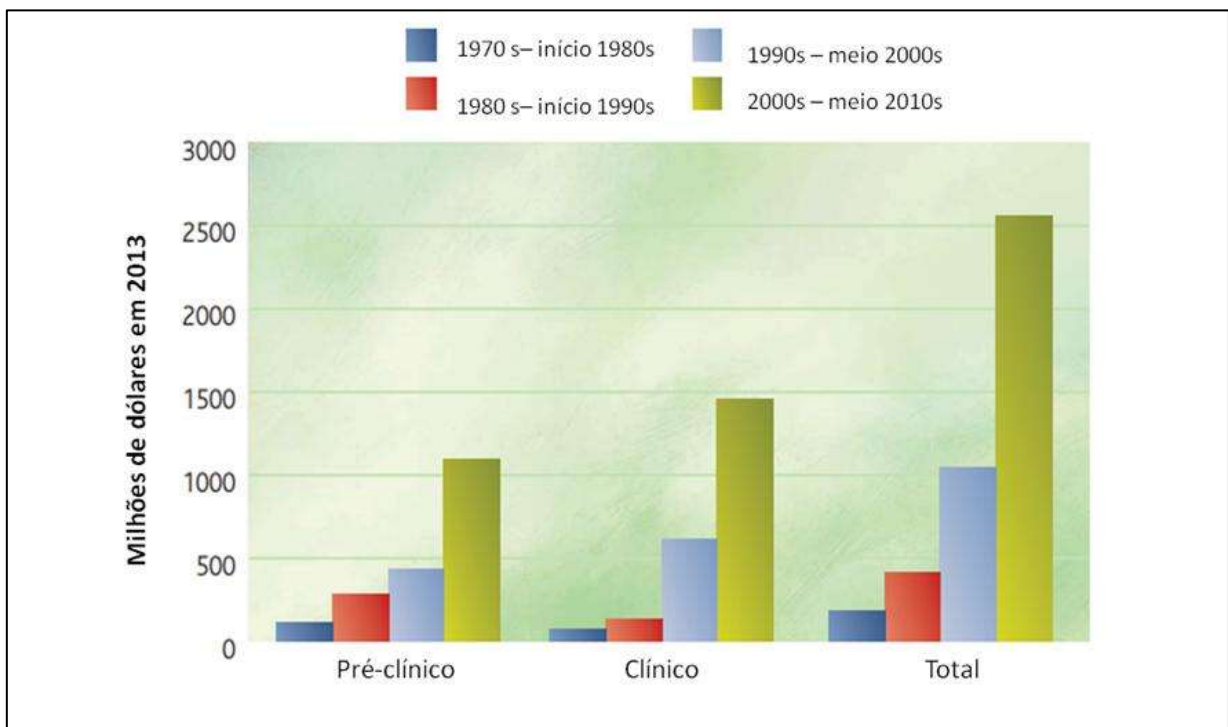
Outro problema é a baixa taxa de sucesso da aprovação clínica, que consiste na probabilidade de um composto entrar no teste clínico e chegar ao mercado. No período de 1999 a 2004 foi de 16%. Assim como o tempo necessário para desenvolvimento de fármacos, há diferenças consideráveis entre áreas terapêuticas: as taxas de sucesso clínico variam de 27% para os anti-infecciosos sistêmicos chegando a taxas de 8 e 7% para os agentes neurofarmacológicos e cardiovasculares, respectivamente⁷⁰.

Os longos tempos de desenvolvimento, juntamente com taxas muitas baixas de sucesso, se traduzem em altos custos globais de P&D para a indústria baseada em pesquisa. O custo médio para desenvolver e obter aprovação para um novo medicamento é 2,6 bilhões de dólares^{70, 71}. Esses altos custos de desenvolvimento de medicamentos estão fazendo com que as despesas gerais do P&D saiam de controle (Figura 13)^{70, 71}.

O exemplo do tratamento do AVC destaca os enormes riscos envolvidos na busca de abordagens inovadoras em áreas de alta necessidade médica. Cerca de 50 neuroprotetores foram testados entre 1995 e 1999 em 74.000 pacientes. Nenhum dos quais demonstrou alguma eficácia, apesar dos promissores resultados pré-clínicos. Com um custo médio de US\$ 8.000,00 por paciente em testes de AVC, que equivale a quase US\$ 6 bilhões em custos de ensaios clínicos sozinhos, sem sequer

contar a descoberta e os custos pré-clínicos. O custo e a complexidade dos estudos clínicos definitivos são elevados e fez muitas empresas farmacêuticas repensarem a realização de P&D⁵¹.

Figura 13: Custo médio para desenvolver e aprovar uma nova droga



O aumento dos custos de P&D, impulsionado principalmente pelo aumento dos custos sem retorno e taxas de falha mais altas para drogas testadas em seres humanos, significa que o custo médio para desenvolver e obter aprovação de marketing para um novo medicamento de prescrição (um processo que geralmente dura mais de uma década) é agora de 2,56 bilhões de dólares. Fonte: TUFTS, C. S. D. D.; 2016.

O investimento em levar muitos projetos de desenvolvimentos de fármacos para frente até que eles falhem, ultrapassa até mesmo os meios financeiros das grandes empresas farmacêuticas⁵¹. Assim, as indústrias farmacêuticas junto com as principais autoridades reguladoras em todo o mundo estão empenhadas em melhorar a eficiência em P&D, principalmente através da transformação do processo de ensaios clínicos. Os desenvolvedores estão fazendo maior uso de tecnologia da informação, alianças estratégicas e parcerias integradas envolvendo patrocinadores, pacientes, organizações de serviços contratados, agências governamentais de pesquisa e prestadores de cuidados de saúde⁷¹ (ex: contratação de serviços de recrutamento pelo patrocinador; terceirização de parte da assistência obrigatória

integral e gratuita ao participante durante e pós-pesquisa; contratação de ORPC - Organizações Representativas de Pesquisas Clínicas).

Além dessas estratégias para melhorar a pesquisa e o desenvolvimento, a indústria farmacêutica está buscando alternativas menos dispendiosa em relação ao custo e tempo para descoberta de tratamentos. Uma dessas alternativas é identificar novos usos para medicamentos já existentes. Como dito pelo farmacologista e ganhador do Nobel de Fisiologia ou Medicina James Black, "a base mais proveitosa para a descoberta de uma nova droga é começar com uma droga antiga"⁷².

O reposicionamento de medicamentos representa cerca de 30% dos medicamentos e vacinas aprovados pela FDA nos últimos anos⁷⁵. Seus benefícios incluem um menor risco financeiro e um retorno em curto prazo para indústria e novos tratamentos com menores preços aos pacientes. A indústria farmacêutica tem a vantagem de trabalhar com alvos de fármacos conhecidos; disponibilidade de materiais e dados como em estudos de toxicologia de longo prazo, que podem ser usados e apresentados às autoridades reguladoras e, como resultado, o potencial de um esforço de pesquisa e desenvolvimento significativamente mais tempo e custo-efetivo do que normalmente é visto ao levar uma nova entidade molecular para o mercado⁶⁹.

No processo de descoberta de novos medicamentos há duas categorias principais desconhecidas que podem ser vinculadas aos principais motivos de falha na aprovação de novos medicamentos: segurança e eficácia⁷⁷.

A primeira categoria está relacionada aos perfis toxicológicos e farmacocinéticos da nova entidade molecular⁷⁷. Por já conhecer os padrões de farmacocinética e de segurança dos fármacos existentes e já possuir aprovação por agências reguladoras para uso em humanos, qualquer uso recém-identificado pode ser avaliado de forma mais ágil⁷²: não há necessidade de realização de ensaios clínicos de fase I e fase II e é mais provável que seja o caso de os medicamentos serem reutilizados em doses semelhantes ou mais baixas em comparação com a dose máxima que já foi aprovada pelas agências reguladoras. O grande número de dados clínicos e experiências acumuladas nos ensaios de fase III (confirmação de eficácia) e fase IV (pós-comercialização) oferecem uma boa compreensão do perfil

do fármaco em termos de eventos adversos, toxicidade crônica e de longo prazo, como bem como efeitos *on-and-off-label*⁷⁷.

A segunda categoria refere-se ao alvo farmacológico e ao caminho biológico que estão sujeitos à interferência terapêutica e está indiretamente vinculado à eficácia clínica⁷⁷. Um dos cenários típicos na descoberta de novos medicamentos, é focar inicialmente na otimização da afinidade de ligação para o alvo primário, muitas vezes com a redução simultânea de afinidade para "alvos secundários", ou seja, focar na seletividade. Por exemplo: uma vez que o papel da COX-2 na inflamação e dor foi estabelecido, os agentes seletivos de COX-2, menos ativos na COX-1, foram identificados. Esta foi a base para o desenvolvimento de celecoxibe, que é uma ordem de grandeza mais potente para COX-2 em comparação com a COX-1⁷⁷. Tais esforços muitas vezes deixam de lado os perfis de alvo de fármacos candidatos para outras classes-alvo não relacionadas, bem como a farmacocinética e perfil de segurança⁷⁷. Assim, a falta de conhecimento completo dos perfis de interação drogas-alvo, em particular para medicamentos mais antigos, cria oportunidades para a reutilização de medicamentos já aprovados para novas indicações terapêuticas através da descoberta de afinidades biologicamente e clinicamente relevantes para novos alvos, que desempenham um papel determinante nessas indicações⁷⁷.

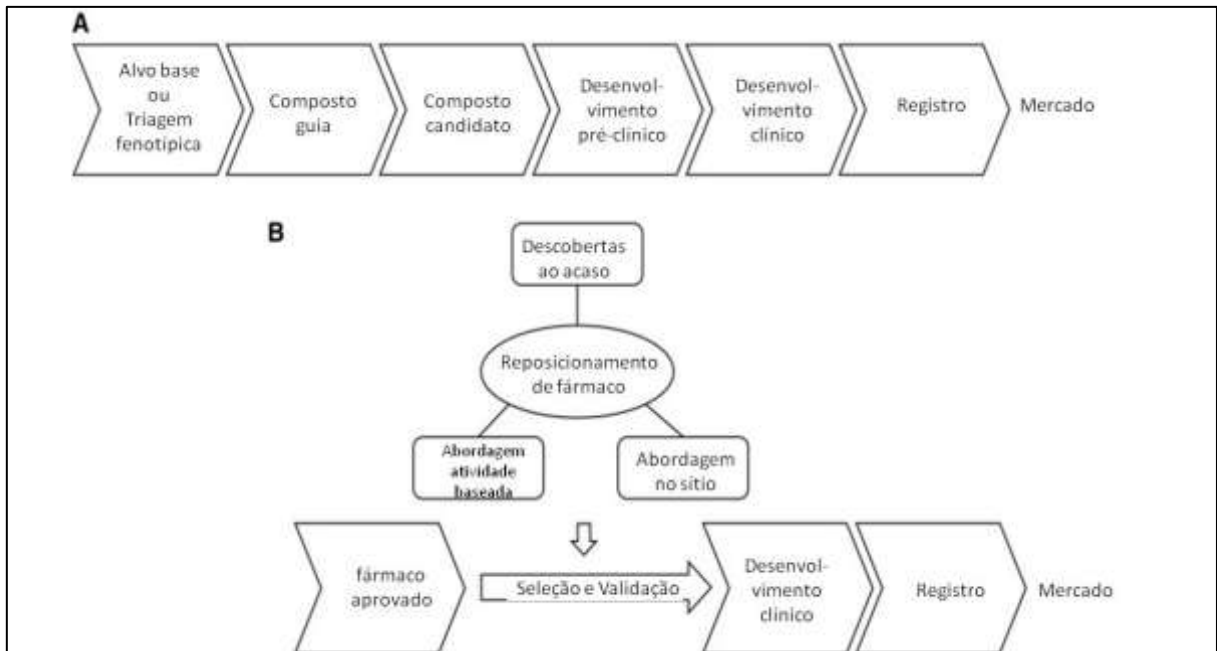
No reposicionamento os fármacos são avaliados ensaios clínicos de fase II, que normalmente duram dois anos e custam US\$ 17 milhões. Uma economia de, aproximadamente, 10 anos e dezenas de milhões para a indústria farmacêutica⁷² e uma expectativa de novos de tratamentos disponíveis à população. Um medicamento reposicionado elimina 6-9 anos comparado ao desenvolvimento de novos medicamentos⁷⁵. Em suma, no reposicionamento etapas já concluídas que podem ser ignoradas permitem que vários anos e riscos e custos substanciais sejam removidos do caminho para o mercado⁷⁶ (Figura 14).

Apesar dessas vantagens no reposicionamento de fármacos, outros aspectos devem ser considerados ao avaliar as oportunidades de reutilização de drogas: relevância para a doença, tolerabilidade de efeitos colaterais para a nova indicação⁷⁷.

^a *On label*: indicação terapêutica de determinado medicamento autorizada/registrada por agência reguladora (no Brasil, pela ANVISA) que é relatado em bula. (FONTE: ANVISA)

Off Label: indicação terapêutica não autorizada por agência reguladora (no Brasil, pela ANVISA), portanto não é relatada em bula. (FONTE: ANVISA)

Figura 14: Representação Sistemática da (A) descoberta tradicional versus (B) reposicionamento de fármacos.



A descoberta e desenvolvimento tradicional de drogas envolve um processo de 10 a 17 anos. O reposicionamento da droga diminui os custos e o tempo de lançamento e reduz a segurança e a incerteza farmacocinética frequentemente associadas ao desenvolvimento tradicional de medicamentos. Fonte: KIM, Tae-Wan, 2015.

7.2. REPOSICIONAMENTO DE FARMÁCOS PARA O SNC

Cada vez mais o reposicionamento de drogas é visto como um método para redescobrir valor em "moléculas antigas" e encontrar novos usos terapêuticos, particularmente em áreas terapêuticas pouco abordadas, como oncologia, sistema nervoso central (SNC), doenças pediátricas ou raras⁷⁸.

O SNC parece ser uma área crítica para a reorientação de drogas. A fisiopatologia subjacente aos distúrbios do SNC é continuamente pesquisada, mas a maioria dos distúrbios, psiquiátrico ou neurológico, ainda é mal compreendida em termos de sua fisiopatologia e mecanismos biológicos⁷⁸. A caracterização das doenças no SNC em sua maioria é baseada em aspectos clínicos e não na fisiopatologia subjacente. Assim, não é de se surpreender que, apesar da alta prevalência de distúrbios do SNC na população e da alta necessidade não atendida nesta área, a descoberta e o desenvolvimento de medicamentos para doenças do SNC tem uma das menores taxas de sucesso⁷⁸.

Atualmente, pouco é conhecido e documentado sobre o reposicionamento de drogas no tratamento de doenças do SNC e o impacto desse permanece desconhecido. Exemplos bem conhecidos de reorientação nessa área são a amantadina (reposicionada do tratamento da gripe para o tratamento da doença de Parkinson no final da década de 1960) e o propranolol (inicialmente aprovado para tratamento de angina e hipertensão e reposicionado para profilaxia da enxaqueca no início dos anos 80). Mais recentemente, o fumarato de dimetila, considerado o produto de modificação da esclerose múltipla mais promissor administrado por via oral, é um exemplo bem conhecido de reposição para psoríase⁷⁸.

Dada a enorme necessidade de tratamento das doenças neurológicas, é importante a reutilização de medicamentos para o SNC. Essa importância foi recentemente reconhecida pela Comissão Europeia, que levantou a discussão sobre este tema e constituiu o Grupo de Peritos da Comissão sobre Acesso Seguro e Oportuno aos Medicamentos para Pacientes (STAMP - *Safe and Timely Access to Medicines for Patients*). O STAMP visa reconhecer a importância de uma investigação abrangente de diferentes oportunidades que uma molécula poderia trazer aos pacientes, com tempos de desenvolvimento mais rápidos e custos reduzidos, além de menores riscos para as empresas farmacêuticas⁷⁸.

8. REPOSICIONAMENTO DOS AINES PARA DP

Devido aos vários obstáculos no desenvolvimento de novas terapêuticas, o uso de compostos conhecidos representa uma alternativa atrativa para o tratamento da DP. As investigações sobre o papel da neuroinflamação na doença de Parkinson causa um interesse para determinar se medicamentos anti-inflamatórios podem ser úteis na prevenção ou manejo dessa doença. A reutilização dessas drogas foi reconhecida como tão promissora quanto à descoberta de novos fármacos no campo da neurodegeneração¹⁰.

A existência de que processos inflamatórios podem contribuir para a progressão da DP é baseada em diversas evidências (presença de micróglia ativada, liberação e acúmulo de citocinas, dano oxidativo às proteínas em líquido cefalorraquidiano e em cérebro de pacientes com DP), bem como em amostras de cérebro *post-mortem* e na maioria dos modelos experimentais de DP¹⁰. Assim,

considerando que a neuroinflamação é prejudicial aos neurônios dopaminérgicos da SNpc, é coerente presumir que um regime anti-inflamatório pode proteger contra a degeneração do neurônio na DP⁹. Observações experimentais crescentes em vários modelos de DP indicam que a atenuação da inflamação pode reduzir a neurodegeneração³⁹.

Diante da ação dos prostanoides na inflamação, componente inflamatório potencialmente envolvido na neurodegeneração na doença de Parkinson, estratégias terapêuticas que visam os fatores neurotóxicos e a ação das ciclo-oxigenases oferecem grande promessa como uma nova abordagem para manter o equilíbrio homeostático na doença⁴⁹.

Assim, uma alternativa para diminuir a neuroinflamação pode ser modulando a atividade da COX, levando a diminuição das concentrações de prostaglandinas derivadas de ácido araquidônico⁹.

8.1. AINES

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINES) são os fármacos mais utilizados na prática clínica⁴⁰. A farmacologia desses fármacos se definiu em 1971, quando John Vane publicou o primeiro estudo de inibição da prostaglandina por ácido acetilsalicílico (AAS)⁴⁰. As décadas seguintes registraram progressos significativos até ponto em que estamos hoje, com numerosos agentes no mercado⁴¹.

Os principais efeitos dos AINES derivam da sua capacidade de suprimir a síntese de prostaglandinas devido à inibição da enzima COX, da via do ácido araquidônico (AA)⁴². No entanto, é muito provável que os benefícios dos AINES estejam relacionados ao efeito na isoforma 2 da COX (COX-2), que é uma enzima induzível no local da inflamação⁴¹, enquanto os efeitos colaterais indesejados sejam devidos à inibição da COX-1⁴³.

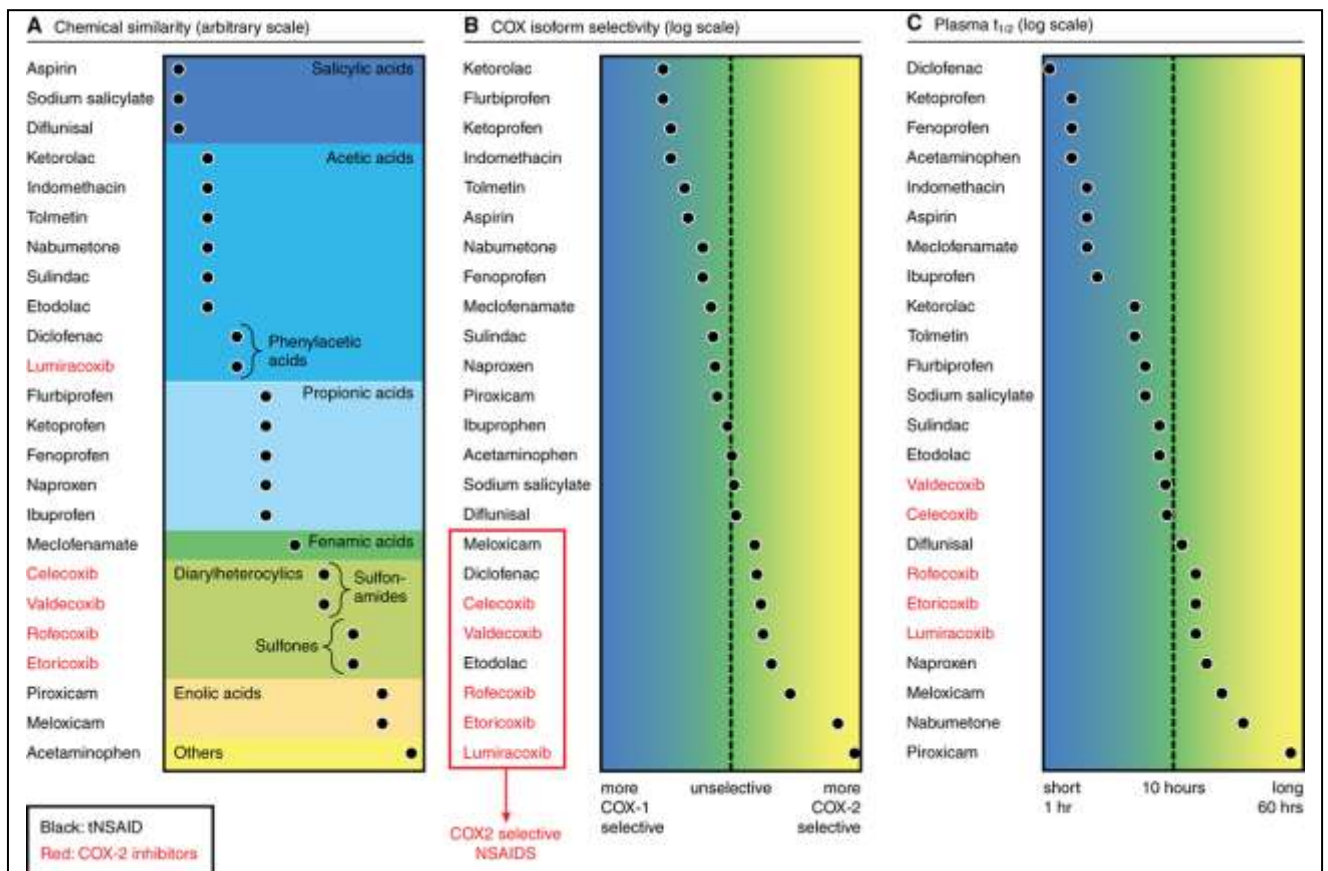
Todos os AINES, incluindo os inibidores seletivos da COX-2, são analgésicos, antipiréticos e anti-edematosos, com exceção do paracetamol e dipirona que são antipiréticos e analgésicos e quase sem atividade anti-edematosa e do AAS que possui ainda atividade anti-agregante plaquetária pronunciada^{12,17}. Em doses variáveis, eles aliviam o edema, a vermelhidão, a dor da inflamação e reduzem a febre⁴³.

8.1.1. Características químicas dos AINES

Os AINES são um grupo de fármacos quimicamente heterogêneo de compostos, que apesar da diversidade de suas estruturas químicas, compartilham as mesmas propriedades terapêuticas^{42,43}. Eles são farmacologicamente agrupados por suas características químicas que geram AINES que inibem tanto a COX-1, quanto a COX-2 e AINES seletivos para COX-2⁴². Também há outra classificação baseada na meia-vida desses: meia vida curta (<6 h) e meia vida longa (>10 h) (Figura 15)¹².

A maioria dos AINES tradicionais (que se ligam tanto a COX-1, quanto a COX-2) são ácidos orgânicos com valores de pK_a baixos. Esses compostos, em geral, são bem absorvidos via oral, altamente ligados às proteínas plasmáticas e excretados por filtração glomerular e por secreção tubular. Eles também se acumulam nos locais de inflamação, onde o pH é mais baixo, estreitando potencialmente a relação entre concentrações plasmáticas e duração do efeito do fármaco. Os AINES tradicionais e os seletivos para COX-2, geralmente, são fármacos hidrofóbicos, uma característica que possibilita que eles acessem o canal de ligação hidrofóbico de araquidonato e resulte em características farmacocinéticas partilhadas¹².

Figura 15: Classificação dos AINES.



Fonte: GILMAN, A. G. et al., 2012.

8.1.2. Farmacocinética

Absorção

A maioria dos AINES é rapidamente absorvida após ingestão oral e as concentrações plasmáticas máximas geralmente são atingidas em 2-3 horas. A baixa solubilidade aquosa da maior parte desses fármacos é refletida por um aumento desproporcional da área sob a curva (AUC) no gráfico de concentração plasmática por tempo. A ingestão de alimentos pode retardar a absorção e às vezes diminuir a disponibilidade sistêmica. Antiácidos, comumente prescritos para pacientes em terapia com AINES, variavelmente atrasam, mas raramente reduzem a absorção¹².

Distribuição

A maioria dos AINES está extensamente ligado às proteínas plasmáticas (95-99%), geralmente à albumina. Essa ligação, com frequência, é dependente da concentração e é saturável. Os AINES altamente ligados à proteína têm o potencial de deslocar outros fármacos, se esses competirem pelos mesmos locais de ligação. Além disso, condições que alteram a concentração da proteína plasmática podem resultar em uma fração livre desses fármacos com potenciais efeitos tóxicos¹².

Esses fármacos, em sua maioria, são amplamente distribuídos por todo corpo. Também, em sua maioria, atingem concentrações suficientes no SNC para efeito analgésico central¹².

Eliminação

A meia-vida plasmática varia consideravelmente entre os AINES. As principais vias de eliminação da maioria desses fármacos são a biotransformação hepática por hidroxilação e a oxidação, principalmente, seguida de excreção renal.¹²

Alguns AINES formam metabólitos ativos (ex.; fembufeno, nabumetona, ácido meclofenâmico, sulindaco), vários são glicuronidados ou conjugados de outro modo, assim como seus metabólitos¹².

Em geral, essa classe de medicamento não é recomendada em caso de doença renal ou hepática avançada, devido a seus efeitos farmacodinâmicos adversos¹².

8.1.3. Mecanismo de ação dos AINES na inflamação

Diversos mediadores coordenam as reações inflamatórias. Os AINES exercem seus principais efeitos terapêuticos da sua capacidade de reduzir, principalmente, aqueles componentes da resposta inflamatória e imunológica em que as prostaglandinas desempenham papel significativo¹⁷.

Esses fármacos se ligam a COX impedindo que o AA se ligue e seja oxidado à PGG₂ e PGH₂. Assim, impede a formação de prostanoídeos, uns dos principais mediadores da inflamação (Figura 12)^{12,17}.

Além de inibir a COX, os AINES também são conhecidos por reduzir a produção de radicais de superóxido, induzir apoptose, inibir a expressão de moléculas de adesão, diminuir a síntese de óxido nítrico, diminuir citocinas pró-

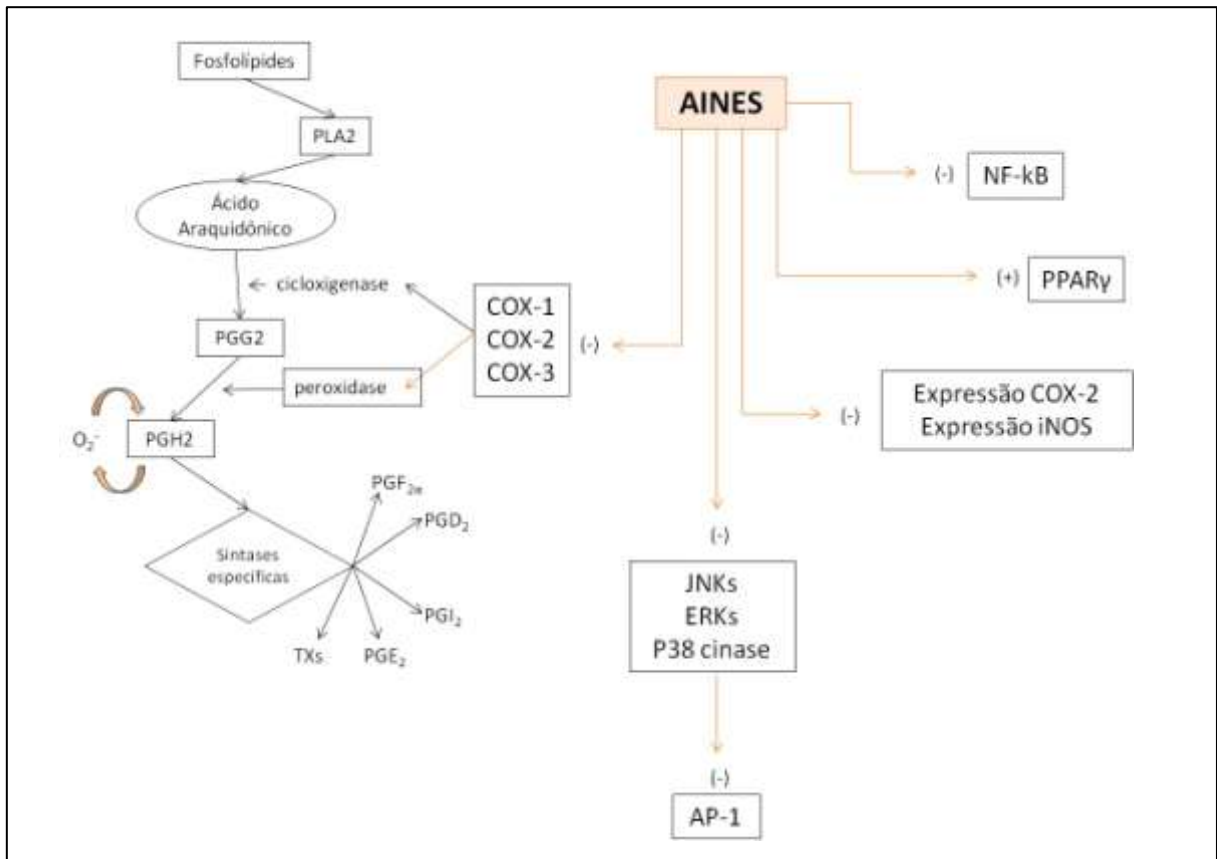
inflamatórias (por exemplo, TNF α , IL-1), modificar a atividade dos linfócitos e alterar as funções da membrana celular⁴³.

Grande parte dos AINES seletivos para COX-2 é de composto di-aril-heterocíclicos com grupo lateral relativamente volumoso, que se alinham com a bolsa lateral grande no canal de ligação do ácido araquidônico AA da COX-2, mas impede sua orientação ideal no canal de ligação menor da COX-1 (Figura 11)^{12,17}.

8.2. AINES NA DP

Evidências experimentais em modelos celulares e animais apoiam um papel preventivo do AINE na DP^{53,54}. Numerosos estudos utilizando modelos parkinsonianos revelaram que AINES têm propriedades neuroprotetoras contra a neurotoxicidade dopaminérgica, não só pelo seu efeito inibidor da ciclo-oxigenase e, conseqüentemente, pela produção de prostaglandinas, mas também pela ativação do receptor PPAR γ , inativação de NF-kB, supressão da iNOS, inativação direta de ROS e RNS, e provavelmente por alguns efeitos farmacológicos ainda não elucidados^{53, 8}. Recentemente, propôs-se que os fármacos anti-inflamatórios possam suprimir a proliferação microglial através da modulação do ciclo celular e da apoptose (Figura 18)⁸.

Figura 16: Efeitos clássicos versus não clássicos de AINES.



Abreviações: COX - cyclo-oxigenase; PLA₂ - fosfolipase A₂; PGG₂ - Prostaglandina G₂; PGH₂ - Prostaglandina H₂; PGF_{2α} - Prostaglandina F_{2α}; PGD₂ - Prostaglandina D₂; PGI₂ - Prostaglandina I₂; PGE₂ - Prostaglandina E₂; TXs - Tromboxanos; NF-κB - Factor nuclear kappa B; PPARγ - Receptor Gama ativado por proliferador de peroxisoma; iNOS - óxido nítrico sintase induzível; JNKs - Cinases N-terminais c-Jun; ERKs - Cinases extracelulares reguladas por sinal; p38 cinases - Proteína cinases ativadas por mitógenos P38; AP-1 - ativador de fatores proteína 1. Fonte: ESPOSITO, Ennio, et al.; 2007.

Estudos utilizando modelos animais na área vêm sendo realizados desde o final da década de 1980, quando McGeer e colegas^{52,84} demonstraram a presença de um grande número de células microgliais positivas de anticorpo leucocitário-DR (HLA-DR) na substância negra pars compacta e estriado de pacientes com DP. Várias investigações experimentais forneceram mais evidências plausíveis para a ativação de uma resposta pró-inflamatória nesta doença. A importância do assunto tem gerado muitas pesquisas no tema emergente e promissor dos AINES e neurodegeneração, fazendo com que Esposito e colaboradores⁵² avaliassem estudos experimentais em que os efeitos dos AINES eram testados em modelos

animais para DP e em cultura de células. Eles analisaram dados de dezenove estudos, compilados no quadro 3⁵².

Até o momento, entre os vários modelos experimentais aceitos de DP, as neurotoxinas ainda representam as ferramentas mais populares para produzir a morte seletiva de neurônios dopaminérgicos tanto em sistemas *in vitro* quanto *in vivo*. Entre as neurotoxinas, a 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetra-hidropiridina (MPTP), um produto do derivado sintético de meperidina e 6-hidroxidopamina (6-OHDA), derivados de dopamina hidroxilados são os mais utilizados para induzir características parkinsonianas em células e espécies animais⁵².

Quadro 3: Estudos experimentais com AINES.

Estudo	Modelo experimental	AINE	Resultado
Grilli et al., 1996	Culturas primárias de células granulares cerebelares de ratos e fatias de hipocampo.	AAS (1 e 3 mM)	Proteção ↓ NF-κB
		AS (3 e 10 mM)	Proteção ↓ NF-κB
		Indometacina (1-20 μM)	Sem proteção
Aubin et al., 1998	Modelo MPTP de camundongos de DP (MPTP 15 mg/kg, SC).	AAS (100 mg/kg)	Proteção eliminando ROS
		AAS de lisina (200 mg/kg)	Proteção eliminando ROS
		AS (100 mg/kg)	Proteção eliminando ROS
		Paracetamol (100 mg/kg)	Sem proteção
		Diclofenaco (100 mg/kg)	Sem proteção
		Ibuprofeno (20 mg/kg)	Sem proteção
		Indometacina (100 mg/kg)	Sem proteção
Ferger et al., 1999	Modelo MPTP de camundongos (C57BL/6) de DP (MPTP 30 mg/kg ou 40 mg/kg, SC).	AAS (50 mg/kg ou 100 mg/kg)	Proteção eliminando ROS
Mohanakumar et al., 2000	Modelo MPTP de camundongos de DP (MPTP 30 mg/kg, IP duas vezes, 16 horas de distância).	AAS (25-100 mg/kg)	Proteção eliminando ROS, ↓ acinesia ou catalepsia
Casper et al., 2000	Neurônios embrionários de ratos em cultura primária toxicidade GLU.	AAS (1 mM)	Mecanismo de proteção indeterminado
		Paracetamol (1 mM)	Mecanismo de proteção indeterminado
		Ibuprofeno (0,1 mM)	Mecanismo de proteção indeterminado

Fonte: ESPOSITO, Ennio, et al., 2007.

Quadro 3: Estudos experimentais com AINES. (continuação)

Estudo	Modelo experimental	AINE	Resultado
Teismann e Ferger, 2001	Modelo MPTP de mesencéfalo (C57BL/6) de camundongo de DP (MPTP 30 mg/kg, SC)	AAS (10; 50; 100 mg/kg) Meloxicam (2; 7,5; 50 mg/kg)	Proteção ↓ COX-1 / COX-2 e ↓ Acinesia ou catalepsia Proteção ↓ COX-2 e ↓ acinesia ou catalepsia
Carrasco e Werner, 2002	Neurônios embrionários de ratos em cultura primária 6-OHDA (1,25-25 µM) MPTP (0,625-20 µM)	AAS (1 mM) ASS (1 mM)	Mecanismo de proteção indeterminado Mecanismo de proteção indeterminado
Kurkowska-Jastrzębska et al., 2002	Modelo MPTP de camundongos de DP.	Indometacina (1 mg/kg)	Proteção ↓ inflamação
Sairam et al., 2003	Modelo MPP ⁺ de rato de DP (intraestriatal 100 nmol em 4 µl/animal).	AAS (50 e 100 mg/kg) diclofenaco (5-100 mg/kg) celecoxibe (2,5-50 mg/kg)	Proteção eliminando ROS Sem proteção Sem proteção
Teismann et al., 2003	Modelo MPTP de camundongos (C57/BL/6) de DP (MPTP (20 mg/kg, IP 4 injeções).	Rofecoxibe (12,5-50 mg/kg)	Proteção ↓ COX-2
Klivenyi et al., 2003	Modelo MPTP de camundongos (C57/BL/6) de DP (MPTP (20 mg/kg, IP).	Rofecoxibe	Proteção ↓ COX-2
Przybytkowski et al., 2004	Modelo MPTP de camundongos (C57/BL/6) de DP (MPTP (60 mg/kg, IP).	Rofecoxibe (10 mg/kg)	Sem proteção
Maharaj et al., 2004	Modelo MPP ⁺ de rato de DP, intraestriatal (32 nmol em 1 µl)	AAS (100 mg/kg) Paracetamol (100 mg/kg)	Proteção eliminando ROS Proteção parcial: ↓ ROS
Carrasco et al., 2005	Culturas neuronais mesencefálicas de rato (6-OHDA 2,5-10 µM e MPP ⁺ 2,5-10 µM).	Ibuprofeno (25; 100; 250 µM) SC-560 (6,5 µM) NS-398 (5-50 µM) e Cayman 10404 (0,1-10 nM)	Proteção para ambas as toxinas, ↓ COX-2 Sem proteção Proteção apenas contra toxicidade de 6-OHDA, ↓ COX-2
Sánchez-Pernaute et al., 2004	Modelo de DP de 6-OHDA, intraestriatal 22,5 µg.	Celocoxibe (20 mg/kg)	Proteção ↓ COX-2

Fonte: ESPOSITO, Ennio, et al., 2007

Quadro 3: Estudos experimentais com AINES. (continuação)

Estudo	Modelo experimental	AINE	Resultado
Morioka et al., 2004	Células PC12 em cultura (MPP ⁺ 30 µM).	Indometacina (100 µM)	Potenciação da neurotoxicidade ↓ MRP
		Ibuprofeno (100 µM)	Potenciação da neurotoxicidade ↓ MRP
		Cetaprofeno (100 µM)	Potenciação da neurotoxicidade ↓ MRP
		Diclofenaco (100 µM)	Potenciação da neurotoxicidade ↓ MRP
		AAS (100 µM)	Sem efeito
Wang et al., 2005	Co-culturas de neurônios primários e micróglia MPP ⁺ (0,5 µM).	DuP697 (10 nM)	Proteção ↓ COX-2
Di Matteo et al., 2006	Rato modelo de DP (MPP ⁺ ou 6-OHDA intraestriatal 1 mM (10 min 1 µl / min)	AAS (100 mg / kg)	Proteção para ambas as toxinas eliminando ROS
		Meloxicam (50 mg/kg)	Sem proteção para ambas toxinas
Maharaj et al., 2006	Rato modelo de DP, intranigral 1 mM (32 nmol em 1 µl)	AAS (100 mg/kg)	Proteção eliminando ROS e ↓ geração de ânions superóxido.
		Paracetamol (100 mg/kg)	Proteção eliminando ROS e ↓ geração de ânions superóxido.

Fonte: ESPOSITO, Ennio, et al., 2007.

A primeira evidência experimental no campo foi publicada por Grilli e colaboradores^{52, 82} alguns anos após o estudo McGeer. Esses autores mostraram que AAS e seu metabólito AS eram protetores contra a neurotoxicidade induzida por glutamato (GLU) em culturas primárias de células granulares do cerebelo de ratos e em fatias de hipocampo. No entanto, a indometacina foi incapaz de prevenir a morte celular induzida por essa mesma substância. O alvo molecular comum para AAS e AS, mas não para indometacina, foi identificado como independente de COX e envolveu inibição específica da indução mediada por GLU de NF-κB, sugerindo, pela primeira vez, uma ligação entre a neuroproteção e o evento nuclear.

Quanto aos efeitos neuroprotetores dos inibidores da COX-2, os pesquisadores Teismann e Ferger^{53,83} relataram, primeiramente, que o inibidor seletivo da COX-2 meloxicam evitava, significativamente, a perda celular de neurônios dopaminérgicos, depleção DA e bradicinesia em modelos parkinsonianos induzidos por MPTP. Posteriormente, vários dados experimentais sugeriram a

eficácia terapêutica dos inibidores da COX-2 contra a neurodegeneração relacionada à reação inflamatória. Os inibidores seletivos de COX-2 (rofecoxibe, celecoxibe, DuP697, valdecoxibe, NS-398) impediram a ativação microglial induzida por neurotoxina dopaminérgica (MPTP ou 6-OHDA) e a perda celular de neurônios dopaminérgicos na substância negra. No entanto, alguns AINES não seletivos e preferenciais ou seletivos da COX-2 (meloxicam, celecoxibe, rofecoxibe) não apresentaram efeitos protetores contra a neurotoxicidade induzida por neurotoxina dopaminérgica e neurotoxicidade induzida por metanfetamina⁵³.

Evidências apoiam o uso de AINES na modulação de mecanismo patológicos subjacentes. O AAS foi o medicamento mais testado (8 estudos), seguido de seu metabólito AS (5 estudos). Apenas um estudo analisou o efeito da COX-1, mas dez focaram o papel da COX-2 utilizando inibidores seletivos desta isoforma da enzima⁵². O tempo de observação, a duração da terapia, a dose, a potência de cruzamento da barreira hematoencefálica e o tipo da neurotoxicidade dopaminérgica podem explicar os resultados conflitantes⁵². Tais resultados experimentais controversos também implicam que os efeitos neuroprotetores dos inibidores da COX-2 podem ser dependentes de outro mecanismo ainda não esclarecido, que não somente advindos da inibição da COX-2⁵³.

No conjunto dos resultados experimentais é plausível que AINES específicos exerçam efeitos preventivos contra a neurotoxicidade induzida por neurotoxina dopaminérgica. Outros estudos ainda irão esclarecer se os AINES protegem as alterações fisiopatológicas induzidas por neurotoxina por meio de um mecanismo não relacionado à atividade inibidora da COX ou simplesmente cancelam a toxicidade da própria neurotoxina⁵³.

Em relação a estudos *in vivo*, desde 2003, estudos observacionais estão sendo publicados explorando o uso de AINES e DP. Alguns estudos sugeririam que o uso de AINES pode modificar o risco de desenvolver a DP, fornecendo a neuroproteção contra a morte das células dopaminérgicas⁹. Porém, diferentes estudos não conseguiram associar o uso dessa classe de medicamentos com uma diminuição do risco de desenvolver a doença ou diminuir a sua progressão⁵².

Uma compilação dos dados de diversos estudos epidemiológicos que tentaram correlacionar o uso de AINES e o risco de desenvolver DP foi realizada e apresentada no Quadro 4.

Quadro 4: Estudos epidemiológicos que correlacionam o uso de AINES e o risco de desenvolver DP.

Ano de publicação	Autores	Tipo de Estudo	Fonte dos dados	Número de participantes	Caso (pacientes com DP)	Controle (pacientes sem DP)	Fármacos	Conclusão do estudo
2003	Chen et al. 66	Coorte prospectivo	Coortes dos estudos anteriores Health Professionals Follow-up Study (HPFS, 1986-2000) e o Nurses' Health Study (NHS, 1980-1998).	142.902	415	142.487	ASS Outros AINES	Houve uma diminuição do risco de DP com o uso regular de AAS e outros AINES.
2005	Chen et al. 65	Coorte prospectivo	Do estudo da Sociedade Amarecina de Câncer "Cancer Prevention Study II (CPS-II) Nutrition Cohort"	146.948	413	146.535	ASS Acetaminofeno Ibuprofeno Outros AINES	Nenhuma associação foi encontrada entre o uso de AAS, outros AINES ou acetaminofeno e o risco de DP. Os resultados sugerem que o uso de Ibuprofeno pode atrasar ou prevenir o aparecimento da DP.
2006	Etminan and Suissa. 59	Caso-controle	Base de dados de um estudo de antihipertensivos ocorrido na Province of Saskatchewan, Canada, em 1980-1987. * Este banco de dados já foi usado anteriormente em vários estudos farmacoepidemiológicos.	13.849	1.259	12.590	AINES	O uso constante de AINES revelou um aumento no desenvolvimento da DP.
2006	Hermán et al. 63	Caso-controle	Banco de dados de Pesquisa de Prática Geral (GPRD) * O GPRD fornece informações de cuidados de saúde em cerca de 5 milhões de pacientes no Reino Unido, desde 1987	7.896	1.258	6.638	ASS Acetaminofeno Outros AINES	O uso de AINES não AAS reduz o risco de DP em homens, mas não em mulheres.
2006	Ton et al. 64	Caso-controle	GHC pharmacy	589	206	383	ASS Outros AINES	Não foi observada associação entre a DP e os AINES não AAS. A associação entre DP e AAS foi estatisticamente imprecisa.
2007	Wahner et al. 61	Caso-controle		579	293	286	ASS Outros AINES	Há evidências que os AINES são protetores contra a DP, com um forte efeito protetor, particularmente, evidente entre os usuários regulares de AINES que não AAS.

Fonte: do AUTOR.

Quadro 4: Estudos epidemiológicos que correlacionam o uso de AINES e o risco de desenvolver DP. **(continuação)**

Ano de publicação	Autores	Tipo de Estudo	Fonte dos dados	Número de participantes	Caso (pacientes com DP)	Controle (pacientes sem DP)	Fármacos	Conclusão do estudo
2007	Bornebroek et al. 62	Coorte prospectivo	De farmácias (7) totalmente automatizadas em que quase todos os participantes (99,7%) foram registrados.	6.512	88		AINEs	Não foi encontrado nenhum efeito benéfico significativo do uso de AINEs no risco de DP. Na verdade, o risco de DP associado ao uso de AINEs pareceu aumentado.
2008	Etminan et al. 60	Coorte retrospectivo	British Columbia Linked Health Database (BCLHD)	697.078	5.010		AINEs	O uso de AINEs não mostrou efeito protetor em relação à DP.
2011	Manthripragada et al. 54	Caso-controle	Banco de dados de hospitais e de farmácias	11.582	1.931	9.651	AAS Outros AINEs	Não há evidências suficientes de efeito protetor de AINEs utilizados pouco antes do diagnóstico na DP.
2011	Becker et al. 55	Caso-controle	Banco de dados de Pesquisa de Prática Geral (GPRD) * O GPRD fornece informações de cuidados de saúde em cerca de 5 milhões de pacientes no Reino Unido, desde 1987	19.995	4.026	15.969	ASS Acetaminofeno Outros AINEs	O uso prolongado de AINEs, aspirina ou acetaminofeno não foi associado a um risco substancialmente alterado de desenvolver DP.
2011	Gao et al. 56	Coorte prospectivo	Coortes dos estudos anteriores Health Professionals Follow-up Study (HPFS, 1986-2000) e o Nurses' Health Study (NHS, 1980-1998).	136.197	291		ASS Ibuprofeno Acetaminofeno outros AINEs	O uso de Ibuprofeno foi significativamente associado a um menor risco de desenvolver DP. Em contraste, não foram observadas associações significativas para uso de aspirina, outros AINEs ou acetaminofeno.
2011	Driver et al. 57	Caso-controle	Physician's Health Study (foi um estudo para a prevenção primária de doenças cardiovasculares e câncer entre 22.071 médicos do sexo masculino.)	22.007	1.181	5.538	AAS Outros AINEs	As associações positivas entre o AINEs não ASS ou o uso de ASS e a DP tendem a desaparecer com o aumento do tempo de latência. O estudo não fornece evidências de que o uso regular de AINEs diminui o risco de doença de Parkinson.

Fonte: do AUTOR.

Os estudos observacionais se iniciaram com grupo de Chen e colaboradores da *Harvard School of Public Health*, que investigou os possíveis benefícios do uso regular de AINES na redução do risco de DP em seres humanos em 2003. Mais tarde, o mesmo grupo de investigadores realizou outro grande estudo avaliando AINES e o risco de DP⁸. Depois dos resultados sugestivos de que os AINES poderiam ter alguma relação protetiva contra a DP, outros estudos propostos por diferentes grupos de pesquisadores foram publicados. Porém, só um pequeno número desses estudos (^{55, 56, 61, 65, 66}) forneceram evidências de que o uso de AINES pode diminuir o risco da doença.

Esses estudos epidemiológicos que tentaram correlacionar o uso regular de AINES e o risco individual de desenvolver DP geraram dados controversos. As discrepâncias são provavelmente devido às diferenças metodológicas e falta de análise detalhada do tipo e uso do fármaco anti-inflamatório⁸.

Diferentes estudos recolheram dados de bases de farmácia, considerando que o paciente fez o uso correto dos AINES dispensados. Isso gera um grande viés, uma vez que uns dos problemas relacionados a medicamento é a adesão ao tratamento. A maioria dos estudos também não levou em consideração o tipo de AINES prescrito, além do tempo de uso desses medicamentos ter variado bastante, tanto em relação à duração do tratamento, quanto em relação ao momento que se iniciou o tratamento. Não foi considerado o grau da doença na avaliação do resultado do tratamento.

Houve também dificuldades inerentes à avaliação dos efeitos de drogas em estudo. A influência de comorbidades na relação entre o uso de AINES e a doença de Parkinson é particularmente importante em uma coorte idosa, população prevalente dos estudos. No estudo do grupo de Driver e colaboradores, a associação positiva entre o uso de AINES e a doença de Parkinson desapareceu quando os controles foram combinados com a comorbidade⁵⁷. Nos outros estudos avaliados as comorbidades não foram consideradas, podendo ser considerado um viés na análise.

Os estudos também apresentaram falhas quanto ao diagnóstico, pois alguns estudos consideraram o diagnóstico de DP a partir da primeira prescrição de agonista dopaminérgicos sem rever o diagnóstico ou a partir dos sintomas de parkinsonismo, que pode ser desenvolvido por outros motivos que não a DP. Esse ponto é importante, pois pode ter incluído nos estudos pacientes sem DP ou com avaliação sugestiva de DP sem a confirmação. Um bom exemplo de eliminação

desse viés foi o estudo do grupo Driver e colaboradores, no qual neurologistas reviram todos os diagnósticos dos pacientes. Verificou-se que 3% dos diagnósticos estavam incorretos, 7 % imprecisos, não foi possível excluir uma causa secundária de parkinsonismo⁵⁷. Caso essa revisão não fosse realizada, 10% dos participantes que seriam incluídos na coorte com DP, não apresentavam a doença.

Apesar de vários estudos experimentais e epidemiológicos terem fornecido evidências que sustentem a hipótese de um efeito protetor de drogas anti-inflamatórias na DP, muitos desses medicamentos não foram rigorosamente testados em ensaios clínicos randomizados, duplo cegos, controlados por placebo e a maioria dos estudos gerou resultados contraditórios⁸. Assim, os AINES ainda devem ser avaliados de forma mais crítica quanto às propriedades neuroprotetoras em seres humanos.

9. CONCLUSÃO

A doença de Parkinson apesar de bem elucidada como um processo neurodegenerativo, tem um cenário obscuro na fonte ocasional desse processo. A neuroinflamação pode ser um fator primário e não só uma consequência na morte dos neurônios dopaminérgicos.

O reposicionamento de fármacos oferece a possibilidade de escapar dos longos prazos para a comercialização de novos medicamentos e diminuir os riscos de desenvolvimento. Além de aumentar a disponibilidade de tratamentos em menor tempo, possibilitando melhor atendimento à saúde da população. O reposicionamento dos AINES, propostos como potenciais fármacos para tratar a doença de Parkinson, permitirá que vários estágios do desenvolvimento clínico do medicamento sejam avançados, uma vez que os perfis de segurança e farmacocinética são, em geral, conhecidos, a toxicologia e o desenvolvimento de formulação já estão concluídos.

A totalidade dos dados disponíveis não é suficiente para recomendar AINES para prevenção da doença de Parkinson⁵⁷. A incerteza em relação a um possível papel neuroprotetor para esses fármacos resulta em grande parte das diferenças em estudos humanos e animais. Os inibidores de ciclo-oxigenase apresentaram neuroproteção em modelos animais de DP, sendo incertos em estudos em seres

humanos. Dessa forma, estudos clínicos mais elaborados e melhores controlados são necessários para esclarecer a questão.

Se os estudos futuros inferirem que a neuroinflamação promove ou acentua os efeitos neurodegenerativos, a intervenção precoce com terapias anti-inflamatórias em populações identificadas em risco pode representar uma oportunidade única para estabelecer um papel causal para a inflamação na progressão de doença neurodegenerativa¹⁰. Essa nova abordagem terapêutica será relevante para DP e para outros distúrbios neurodegenerativos⁴⁹.

Assim, estudos de uso de drogas anti-inflamatórias na DP são um ponto de partida importante que, pela primeira vez, pode nos levar ao desenvolvimento de agentes capazes de modificar o curso da doença⁸.

10. REFERÊNCIAS

1. PRZEDBORSKI, Serge. The two-century journey of Parkinson disease research. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 18, n. 4, p. 251-259, 2017.
2. WERNECK, Antonio Luiz. Doença de Parkinson: Etiopatogenia, clínica e terapêutica. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 9, n. 1, 2010.
3. OMS. Trastornos neurológicos: un serio desafío para la salud pública en las Américas y en todo el mundo. Disponível em:
http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=240%3A2008-trastornos-neurológicos-un-serio-desafío-salud-publica-americas-todo-mundo&catid=916%3Arisk-factors&Itemid=40595&lang=es. Acesso em: 27 de junho de 2017.
4. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Doença de Parkinson. Disponível em:
<http://www.blog.saude.gov.br/index.php/34589-doenca-de-parkinson> Acesso em: 27 de junho de 2017.
5. **Parkinson's Disease & Parkinsonism – international Parkinson and movement disorder society**. Disponível em: <http://www.movementdisorders.org/MDS/About/Movement-Disorder-Overviews/Parkinsons-Disease--Parkinsonism.htm> Acessado em 07/09/2017
6. KALIA, Lorraine V.; LANG, Anthony E. Parkinson's Disease. *Lancet*, v. 386, p. 896-912, 2015
7. HIRSCH, Etienne C.; HUNOT, Stéphane; HARTMANN, Andreas. Neuroinflammatory processes in Parkinson's disease. **Parkinsonism & related disorders**, v. 11, p. S9-S15, 2005.
8. BASSANI, Taysa Bervian; VITAL, Maria ABF; RAUH, Laryssa K. Neuroinflammation in the pathophysiology of Parkinson's disease and therapeutic evidence of anti-inflammatory drugs. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, v. 73, n. 7, p. 616-623, 2015.
9. HIRSCH, Etienne C.; HUNOT, Stéphane. Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection?. **The Lancet Neurology**, v. 8, n. 4, p. 382-397, 2009.
10. TANSEY, Malú G.; MCCOY, Melissa K.; FRANK-CANNON, Tamy C. Neuroinflammatory mechanisms in Parkinson's disease: potential environmental triggers, pathways, and targets for early therapeutic intervention. **Experimental neurology**, v. 208, n. 1, p. 1-25, 2007.
11. PARKINSON, James. An essay on the shaking palsy. **The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences**, v. 14, n. 2, p. 223-236, 2002.
12. GILMAN, A. G. et al. Goodman and Gilman's. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 12ª ed. Rio de Janeiro. McGraw Hill Interamericana do Brasil, 2012. 937-942 p
13. GOSWAMI, Poonam; JOSHI, Neeraj; SINGH, Sarika. Neurodegenerative signaling factors and mechanisms in Parkinson's pathology. **Toxicology in Vitro**, 2017.
14. DAUER, William; PRZEDBORSKI, Serge. Parkinson's disease: mechanisms and models. **Neuron**, v. 39, n. 6, p. 889-909, 2003.
15. SILVA, Delson José da et al. Neuroinflamação na doença de Parkinson: avaliação de citocinas induzidas via Toll like receptors em células do sangue periférico. 2014.
16. STEFANI, Massimo; DOBSON, Christopher M. Protein aggregation and aggregate toxicity:

- new insights into protein folding, misfolding diseases and biological evolution. **Journal of molecular medicine**, v. 81, n. 11, p. 678-699, 2003.
17. RANG, H. P. et al. **Farmacologia**. 7ª edição. Rio de Janeiro: Guabanara, Koogan AS, 2012. 318-324 p.
 18. BLANDINI, Fabio. An update on the potential role of excitotoxicity in the pathogenesis of Parkinson's disease. **Functional neurology**, v. 25, n. 2, p. 65, 2010.
 19. AMBROSI, Giulia; CERRI, Silvia; BLANDINI, Fabio. A further update on the role of excitotoxicity in the pathogenesis of Parkinson's disease. **Journal of Neural Transmission**, v. 121, n. 8, p. 849-859, 2014.
 20. YACOUBIAN, Talene A.; STANDAERT, David G. Targets for neuroprotection in Parkinson's disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1792, n. 7, p. 676-687, 2009.
 21. GAKI, Georgia S.; PAPAVALASSILOU, Athanasios G. Oxidative stress-induced signaling pathways implicated in the pathogenesis of Parkinson's disease. **Neuromolecular medicine**, v. 16, n. 2, p. 217-230, 2014.
 22. NIKAM, Shashikant et al. Oxidative stress in Parkinson's disease. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 24, n. 1, p. 98-101, 2009.
 23. COHEN, Gerald. Oxidative stress, mitochondrial respiration, and Parkinson's disease. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 899, n. 1, p. 112-120, 2000.
 24. PHANI, Sudarshan; LOIKE, John D.; PRZEDBORSKI, Serge. Neurodegeneration and inflammation in Parkinson's disease. **Parkinsonism & related disorders**, v. 18, p. S207-S209, 2012.
 25. TANSEY, Malú G.; GOLDBERG, Matthew S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: its role in neuronal death and implications for therapeutic intervention. **Neurobiology of disease**, v. 37, n. 3, p. 510-518, 2010.
 26. MORE, Sandeep Vasant et al. Cellular and molecular mediators of neuroinflammation in the pathogenesis of Parkinson's disease. **Mediators of inflammation**, v. 2013, 2013.
 27. SCHWAB, Claudia; MCGEER, Patrick L. Inflammatory aspects of Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 13, n. 4, p. 359-369, 2008.
 28. Tese - SILVA, Delson José da et al. Neuroinflamação na doença de Parkinson: avaliação de citocinas induzidas via Toll like receptors em células do sangue periférico. 2014.
 29. AÏD, Saba; BOSETTI, Francesca. Targeting cyclooxygenases-1 and-2 in neuroinflammation: Therapeutic implications. **Biochimie**, v. 93, n. 1, p. 46-51, 2011.
 30. TILLEUX, Sébastien; HERMANS, Emmanuel. Neuroinflammation and regulation of glial glutamate uptake in neurological disorders. **Journal of neuroscience research**, v. 85, n. 10, p. 2059-2070, 2007.
 31. RHODES, K. E.; RAIVICH, G.; FAWCETT, J. W. The injury response of oligodendrocyte precursor cells is induced by platelets, macrophages and inflammation-associated cytokines. **Neuroscience**, v. 140, n. 1, p. 87-100, 2006.
 32. **Proteina data bank. Arachidonic Acid. Disponível em: <http://www4.rcsb.org/ligand/ACD> Acesso em: 26 de setembro de 2017.**

33. Formação do ácido araquidônico. Disponível em: <http://slideplayer.com.br/slide/42546/>
Acessado em 26 de setembro de 2017.
34. Estrutura da COX1 e COX2. Disponível em:
<http://scialert.net/fulltext/?doi=ijp.2010.813.825>. Acessado em 26 de setembro de 2017.
35. Formação de PGH₂. Disponível em:
https://pt.wikipedia.org/wiki/Cascata_do_%C3%A1cido_araquid%C3%B3nico#/media/File:Prostaglandin_H2.png Acessado em 26 de setembro de 2017.
36. HASTINGS, Teresa G. Enzymatic oxidation of dopamine: the role of prostaglandin H synthase. **Journal of neurochemistry**, v. 64, n. 2, p. 919-924, 1995.
37. CONSILVIO, Christopher; VINCENT, Andrea M.; FELDMAN, Eva L. Neuroinflammation, COX-2, and ALS—a dual role?. **Experimental neurology**, v. 187, n. 1, p. 1-10, 2004
38. GAO, Hui-Ming et al. Novel anti-inflammatory therapy for Parkinson's disease. **Trends in pharmacological sciences**, v. 24, n. 8, p. 395-401, 2003.
39. MINGHETTI, Luisa. Cyclooxygenase-2 (COX-2) in inflammatory and degenerative brain diseases. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, v. 63, n. 9, p. 901-910, 2004.
40. VANE, John R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature**, v. 231, n. 25, p. 232-235, 1971.
41. MODENA, Brian; WHITE, Andrew A.; WOESSNER, Katharine M. Aspirin and Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs Hypersensitivity and Management. **Immunology and Allergy Clinics**, v. 37, n. 4, p. 727-749, 2017.
42. AURIEL, Eitan; REGEV, Keren; KORCZYN, Amos D. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs exposure and the central nervous system. **Handbook of clinical neurology**, v. 119, p. 577-584, 2014.
43. VANE, J. R.; BOTTING, R. M. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **American Journal of Medicine**, v. 104, n. sup1, p. 2S-8S, 1998.
44. TZENG, Shun-Fen; HSIAO, Han-Yun; MAK, Oi-Tong. Prostaglandins and cyclooxygenases in glial cells during brain inflammation. **Current Drug Targets-Inflammation & Allergy**, v. 4, n. 3, p. 335-340, 2005.
45. SAMII, Ali et al. NSAID use and the risk of Parkinson's DISEASE. **Drugs & aging**, v. 26, n. 9, p. 769-779, 2009.
46. HERRERA, Andrea et al. Are dopamine oxidation metabolites involved in the loss of dopaminergic neurons in the nigrostriatal system in Parkinson's disease?. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 8, n. 4, p. 702-711, 2017.
47. MONTEIRO, Sílvia Alexandra Moreira. Neurotoxicidade da Dopamina e dos seus Conjugados. Estudos In Vitro em Neurónios Dopaminérgicos Humanos SH-SY5Y, e In Vivo em Ratos Sprague-Dawley. 2010.
48. HENCHCLIFFE, Claire; BEAL, M. Flint. Mitochondrial biology and oxidative stress in Parkinson disease pathogenesis. **Nature clinical practice Neurology**, v. 4, n. 11, p. 600-609, 2008.
49. FIGUEIREDO-PEREIRA, Maria E.; CORWIN, Chuhyon; BABICH, John. Prostaglandin J2: a

- potential target for halting inflammation-induced neurodegeneration. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1363, n. 1, p. 125-137, 2016.
50. SWINNEY, David C.; ANTHONY, Jason. How were new medicines discovered?. **Nature reviews Drug discovery**, v. 10, n. 7, p. 507-519, 2011.
 51. SCHMID, Esther F.; SMITH, Dennis A. Pharmaceutical R&D in the spotlight: why is there still unmet medical need?. **Drug discovery today**, v. 12, n. 23, p. 998-1006, 2007.
 52. ESPOSITO, Ennio, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in Parkinson's disease. **Experimental neurology**, v. 2, n. 205, p. 295-312, 2007
 53. ASANUMA, Masato; MIYAZAKI, Ikuko. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental parkinsonian models and Parkinson's disease. **Current pharmaceutical design**, v. 14, n. 14, p. 1428-1434, 2008.
 54. MANTHRIPRAGADA, Angelika D. et al. Non-steroidal anti-inflammatory drug use and the risk of Parkinson's disease. **Neuroepidemiology**, v. 36, n. 3, p. 155-161, 2011.
 55. BECKER, C.; JICK, S. S.; MEIER, C. R. NSAID use and risk of Parkinson disease: a population-based case-control study. **European journal of neurology**, v. 18, n. 11, p. 1336-1342, 2011.
 56. GAO, Xiang et al. Use of ibuprofen and risk of Parkinson disease. **Neurology**, v. 76, n. 10, p. 863-869, 2011.
 57. DRIVER, Jane A. et al. Use of non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of Parkinson's disease: nested case-control study. **Bmj**, v. 342, p. d198, 2011.
 58. GAGNE, Joshua J.; POWER, Melinda C. Anti-inflammatory drugs and risk of Parkinson disease A meta-analysis. **Neurology**, v. 74, n. 12, p. 995-1002, 2010.
 59. ETMINAN, Mahyar; SUISSA, Samy. NSAID use and the risk of Parkinson's disease. **Current drug safety**, v. 1, n. 3, p. 223-225, 2006.
 60. ETMINAN, Mahyar; CARLETON, Bruce C.; SAMII, Ali. Non-steroidal anti-inflammatory drug use and the risk of Parkinson disease: a retrospective cohort study. **Journal of Clinical Neuroscience**, v. 15, n. 5, p. 576-577, 2008.
 61. WAHNER, Angelika D. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs may protect against Parkinson disease. **Neurology**, v. 69, n. 19, p. 1836-1842, 2007.
 62. BORNEBROEK, Marjolijn et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of Parkinson disease. **Neuroepidemiology**, v. 28, n. 4, p. 193-196, 2007.
 63. HERNÁN, Miguel A.; LOGROSCINO, Giancarlo; RODRÍGUEZ, Luis A. García. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the incidence of Parkinson disease. **Neurology**, v. 66, n. 7, p. 1097-1099, 2006.
 64. TON, Thanh G. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of Parkinson's disease. **Movement Disorders**, v. 21, n. 7, p. 964-969, 2006.
 65. CHEN, H. et al. Nonsteroidal antiinflammatory drug use and the risk for Parkinson's disease. **Annals of neurology**, v. 58, n. 6, p. 963, 2005.
 66. CHEN, Honglei et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of Parkinson disease. **Archives of neurology**, v. 60, n. 8, p. 1059-1064, 2003
 67. REES, Karen et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs as disease-modifying agents for

- Parkinson's disease: evidence from observational studies. **The Cochrane Library**, 2011.
68. MURTEIRA, Susana et al. Drug reformulations and repositioning in pharmaceutical industry and its impact on market access: reassessment of nomenclature. **Journal of market access & health policy**, v. 1, n. 1, p. 21131, 2013.
 69. EKINS, Sean et al. In silico repositioning of approved drugs for rare and neglected diseases. **Drug discovery today**, v. 16, n. 7, p. 298-310, 2011.
 70. KAITIN, Kenneth I. Deconstructing the drug development process: the new face of innovation. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 87, n. 3, p. 356-361, 2010.
 71. TUFTS, C. S. D. D. Outlook 2016 Report. **Boston: Tufts CSDD**, 2017.
 72. CHONG, Curtis R.; SULLIVAN, David J. New uses for old drugs. **Nature**, v. 448, n. 7154, p. 645-646, 2007.
 73. KIM, Tae-Wan. Drug repositioning approaches for the discovery of new therapeutics for Alzheimer's disease. **Neurotherapeutics**, v. 12, n. 1, p. 132-142, 2015.
 74. TUFTS, C. S. D. D. Outlook 2015 Report. **Boston: Tufts CSDD**, 2016.
 75. JIN, Guangxu; WONG, Stephen TC. Toward better drug repositioning: prioritizing and integrating existing methods into efficient pipelines. **Drug discovery today**, v. 19, n. 5, p. 637-644, 2014.
 76. ASHBURN, Ted T.; THOR, Karl B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. **Nature reviews Drug discovery**, v. 3, n. 8, p. 673-683, 2004.
 77. OPREA, T. I.; MESTRES, J. Drug repurposing: far beyond new targets for old drugs. **The AAPS journal**, v. 14, n. 4, p. 759-763, 2012.
 78. CABAN, A. et al. Filling the gap in CNS drug development: evaluation of the role of drug repurposing. **Journal of Market Access & Health Policy**, v. 5, n. 1, p. 1299833, 2017.
 79. CONITEC. Relatório de recomendação 291 - Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas: Doença de Parkinson. **Brasília: Ministério da Saúde**, 2017.
 80. CONWAY, Kelly A. et al. Kinetic stabilization of the α -synuclein protofibril by a dopamine- α -synuclein adduct. **Science**, v. 294, n. 5545, p. 1346-1349, 2001.
 81. SHULMAN, Joshua M.; DE JAGER, Philip L.; FEANY, Mel B. Parkinson's disease: genetics and pathogenesis. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 6, p. 193-222, 2011.
 82. GRILLI, Mariagrazia et al. Neuroprotection by aspirin and sodium salicylate through blockade of NF- κ B activation. **Science**, v. 274, n. 5291, p. 1383-1385, 1996.
 83. TEISMANN, Peter; FERGER, Boris. Inhibition of the cyclooxygenase isoenzymes COX-1 and COX-2 provide neuroprotection in the MPTP-mouse model of Parkinson's disease. **Synapse**, v. 39, n. 2, p. 167-174, 2001.
 84. MCGEER, P. L. et al. Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. **Neurology**, v. 38, n. 8, p. 1285-1285, 1988.
 85. WARNER, T. D.; MITCHELL, J. A. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. **The FASEB journal**, v. 18, n. 7, p. 790-804, 2004.