

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
CAROLINE ZOCATELLI DE PAULA

NOVOS ALVOS FARMACOLÓGICOS PARA AS DOENÇAS
NEURODEGENERATIVAS: Esclerose Lateral Amiotrófica e Doença de Huntington

Belo Horizonte

2015

CAROLINE ZOCATELLI DE PAULA

**NOVOS ALVOS FARMACOLÓGICOS PARA AS DOENÇAS
NEURODEGENERATIVAS: Esclerose Lateral Amiotrófica e Doença de Huntington**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Biológicas/ICB da Universidade Federal de Minas Gerais como pré requisito para a obtenção do título Especialista em Farmacologia *Lato sensu*

Orientadora: Prof.^a Dra Luciene Bruno Vieira.

Belo Horizonte

2015

043

Paula, Caroline Zocatelli de.

Novos alvos farmacológicos para as doenças neurodegenerativas: Esclerose Lateral Amiotrófica e Doença de Huntington [manuscrito] / Caroline Zocatelli de Paula. - 2015.

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

Orientadora: Luciene Bruno Vieira.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Biológicas/ICB da Universidade Federal de Minas Gerais, como pré requisito para obtenção do título de Especialista em Farmacologia Lato sensu.

1. Doenças neurodegenerativas - Teses. 2. Esclerose amiotrófica lateral - Teses. 3. Huntington, Doença de - Tratamento - Teses. 4. Neuroproteção. 5. Neurodegeneração. 6. Farmacologia - Teses. I. Vieira, Luciene Bruno. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 615

**"NOVOS ALVOS FARMACOLÓGICOS PARA AS DOENÇAS
NEURODEGENERATIVAS: ELA E HUNTINGTON".**

CAROLINE ZOCATELLI DE PAULA

Monografia de Especialização defendida e aprovada, no dia 03 de julho de 2015, pela
Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



PROF. STEFFANY BRUNO DE ASSIS CAU
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



DRA. NATALIA PESSOA ROCHA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



DRA. ALINE SILVA DE MIRANDA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



PROFA. LUCIENE BRUNO VIEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ORIENTADORA

DEDICATÓRIA

**Aos meus pais, Nelson e Nilceia
pelo amor incondicional, apoio e exemplo.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a Nossa Senhora por me guiarem, dando força e saúde para seguir em frente.

Aos meus pais, Nelson e Nilceia minha base, pelo amor, carinho, compreensão, por estarem sempre ao meu lado, participando diretamente da minha vida, me apoiando em todos os momentos, acreditando e vibrando em cada conquista. Vencemos mais uma etapa! Amo vocês!

Ao meu irmão Matheus, pela companhia diária, por ouvir minhas aflições, pelo carinho e paciência.

Ao meu namorado Fernando, pelo apoio, carinho, amor, paciência, por compreender minha ausência em alguns momentos, por acreditar em mim. Esta conquista é nossa!

A Raimunda, pelas suas orações, palavras de carinho nos momentos de alegrias e aflições, amor e carinho.

Aos meus familiares e amigos pelo apoio, carinho e compreensão dos momentos em que fui ausente. Em especial, aos amigos da MAO (Atílio, Cristiane e Lillian) pela amizade e por tornar os finais de semana mais alegres e divertidos.

Aos professores da Pós-Graduação em Farmacologia por dividirem as experiências e conhecimentos durante as aulas.

A todos que ajudarem no desenvolvimento deste trabalho, o meu muito obrigada!

RESUMO

As doenças neurodegenerativas afetam milhões de pessoas em todo o mundo. Os danos progressivos relativos à perda neuronal apresentam consequências graves relacionadas com a saúde mental e física do paciente. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que 6,8 milhões de pessoas morrem a cada ano, em consequência das doenças neurológicas. Em estudos internacionais a incidência foi de 1,89/100.000/ano e a prevalência variou de 2,7 a 7,4/100.000 (WORMS, 2001). Dados do *National Institute of Neurological Disorders and Stroke* (NINDS, 2013), mostram que mais de 12.000 pessoas, nos Estados Unidos, apresentam diagnóstico definitivo para esclerose lateral amiotrófica (ELA), com uma prevalência de 3,9 casos para 100.000 pessoas. No Brasil, em um trabalho preliminar realizado pela Associação Brasileira de Esclerose Lateral Amiotrófica (ABRELA), foram catalogados 540 pacientes com ELA, sendo 58% do sexo masculino. Estima-se que a incidência em nosso país seja de 1,5 casos/100.000 pessoas, ou seja, 2.500 pacientes por ano. Ainda que sejam encontradas diferenças na prevalência geográfica da Doença de Huntington (DH), o transtorno é observado em todo o mundo, afetando 5 a 8 em cada 100.000 pessoas (WARBY, VISSCHER et al. 2011). Os mecanismos pelos quais ELA e DH causam morte neuronal ainda não estão totalmente elucidados. Apesar de todos os esforços da comunidade científica, ainda não existe atualmente nenhuma cura ou forma de retardar a progressão destas duas doenças. Nesta revisão abordaremos alguns tratamentos que tentam impedir a progressão da ELA e DH.

Palavras-chave: doenças neurodegenerativas, esclerose lateral amiotrófica, tratamento, doença de Huntington, neuroproteção, neurodegeneração.

ABSTRACT

Neurodegenerative diseases affect millions of people worldwide. Progressive damage relating to neuronal loss have serious consequences related to the mental and physical health of the patient. According to the World Health Organization (WHO), 6.8 million people die each year as a result of neurological diseases. In international studies the incidence was 1.89 / 100,000 / year and the prevalence ranged from 2.7 to 7.4 / 100,000 (WORMS, 2001). Data from the *National Institute of Neurological Disorders and Stroke* (NINDS, 2013), show that more than 12,000 people in the USA have definitive diagnosis for Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS), with a prevalence of 3.9 cases per 100,000 people. Although differences are found in the geographic prevalence of Huntington's disease (HD), the disorder is observed around the world, affecting 5 to 8 per 100,000 persons (Warby, Visscher et al., 2011). The mechanisms by which ALS and DH cause neuronal death are still fully elucidated. And despite all the efforts of the scientific community, yet there is currently no cure or way to slow the progression of these diseases. In this review we will cover some treatments trying to prevent the progress of amyotrophic lateral sclerosis and Huntington's disease.

Keywords: Neurodegenerative diseases, amyotrophic lateral sclerosis, treatment, huntington's disease, neuroprotection, neurodegeneration.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Estrutura cristalina da superóxido dismutase 1 humana. <i>Fonte:</i> Strange et al., 2006.....	34
FIGURA 2 – Diagrama simplificado das duas principais vias de sinalização na apoptose. <i>Fonte:</i> Rang & Dale, 2011.....	43
FIGURA 3 – Mecanismos da excitotoxicidade <i>Fonte:</i> Rang & Dale, 2011	47

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – Critérios de Airlie House – El Escorial revisado (1998)	21
QUADRO 2 – Critérios de Awaji (2008)	22

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA	15
1.1.1 Histórico..	15
1.1.2 Etiologia.....	15
1.1.3 Epidemiologia	16
1.1.4 Fisiopatologia.....	17
1.1.5 Fatores genéticos.....	19
1.1.6 Critérios de diagnóstico.....	21
1.1.7Tratamento.....	23
1.2DOENÇA DE HUNTINGTON	24
1.2.1 Histórico.....	24
1.2.2 Etiologia.....	25
1.2.3 Epidemiologia.....	26
1.2.4 Fisiopatologia.....	26
1.2.5 Fatores genéticos.....	27
1.2.6 Diagnóstico.....	29
1.2.7 Tratamento.....	30
2 OBJETIVO	32
3 MÉTODOS	32
4 NOVOS ALVOS FARMACOLÓGICOS PARA ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA	33
4.1 Função mitocondrial.....	33
4.2 Melatonina.....	38
4.3 Agregação de proteínas: autofagia.....	39
4.4 Endocanabinóides.....	40
5 NOVOS ALVOS FARMACOLÓGICOS PARA DOENÇA DE HUNTINGTON	40
5.1 Vias apoptóticas.....	40
5.2 Estresse oxidativo.....	44

5.3 Excitotoxicidade.....	44
6 CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS	49
ANEXOS	63

1 INTRODUÇÃO

1.1 ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA

1.1.1 HISTÓRICO

A esclerose lateral amiotrófica (ELA) foi descrita inicialmente em 1869, no Hospital Salpêtrière em Paris, por Jean-Martin Charcot, importante médico, professor e cientista francês. Por esse motivo, a doença é conhecida na França como “maladie de Charcot”. Coube também a ele a descrição da paralisia bulbar progressiva e da esclerose lateral primária. A atrofia muscular progressiva foi descrita antes da ELA por François Aran em 1848. Em 1933, Brain introduziu o termo doença do neurônio motor (DNM) para englobar todas estas doenças. Porém em 1969, Brain e Walton consideraram DNM e ELA como sinônimos, sendo as demais doenças consideradas subtipos de ELA (Quadros *et al.*, 2015). Nos Estados Unidos a doença é também conhecida como Doença de Lou Gehrig, famoso jogador de beisebol que faleceu devido à doença em 1941. No Brasil, a primeira descrição da doença coube ao médico Cypriano Freitas, em 1909. Em 1919, o médico Gonçalves Viana, professor catedrático de anatomia e fisiologia em Porto Alegre, caracterizou e descreveu os sintomas da doença em dois pacientes. (ABRELA, 2015)

1.1.2 ETIOLOGIA

A causa da maioria dos casos de ELA ainda não é conhecida e sugere-se que múltiplos fatores estejam envolvidos neste mecanismo de lesão.

Entre os fatores genéticos, a mutação do gene Superóxido-Dismutase-1 (SOD1) no cromossomo 21 é responsável por cerca de 20% dos casos de ELA familiar, acreditando-se que provocaria a lesão neuronal por liberação de radicais livres, por agregação anormal de proteínas ou pelo aumento da suscetibilidade da célula e a excitotoxicidade (Bruijn *et al.*, 2004).

Existem mais de 100 mutações do gene SOD1, sendo a mais comum delas a substituição da valina pela alanina na posição 4 (Bastos *et al.*, 2011).

Uma hipótese bastante aceita para o desencadeamento da ELA é um defeito da recaptação na fenda sináptica, ou da liberação do glutamato, principal neurotransmissor excitatório. O aumento da concentração do glutamato no plasma e no líquido leva à morte celular dos neurônios por excitotoxicidade (Lasiene *et al.*, 2011).

Fatores neurotróficos são produzidos em órgãos alvos e transportados pelos axônios dos neurônios de forma retrógrada até atingir seus corpos celulares. Acredita-se que estes fatores restaurem os neurônios de lesões químicas ou mecânicas. Alterações nesses fatores neurotróficos ou no seu transporte também podem levar à morte celular (Quadros *et al.*, www.abrela.org.br).

Com o avançar da idade, o neurônio motor apresenta uma redução da sua capacidade de defesa contra o stress oxidativo, parece ocorrer um influxo maior de cálcio dentro das células, o que aumentaria a lesão de neurônios vulneráveis (Oliveira *et al.*, 2009-b).

1.1.3 EPIDEMIOLOGIA

Dados brasileiros mostram uma incidência anual da ELA entre 0,3 a 0,5 casos novos em cada 100.000 habitantes, com relativo aumento a cada década de vida, dados estes, menores do que os descritos na Europa e nos Estados Unidos (Dietrich-Neto *et al.*, 2000).

A doença afeta mais o sexo masculino do que o feminino em uma proporção de 2:1, acomete mais indivíduos da raça branca do que de outras raças e seu início é por volta dos 60 anos de idade. Apenas cerca de 4 a 6% dos casos são em pessoas com menos de 40 anos (Millul *et al.*, 2005).

1.1.4 FISIOPATOLOGIA

Em relação à etiologia, é classificada em ELA esporádica (ELAe) correspondendo a 90-95% dos casos, e o restante à ELA familiar (ELAf). A etiologia da ELAe não está definida, mas se acredita que seja multifatorial. Evidências sugerem vários mecanismos envolvidos, sendo os principais: excitotoxicidade mediada pelo glutamato, neuroinflamação, anormalidades de fatores neurotróficos, mutação da SOD1, expansões repetidas de hexanucleotídeos (GGGGCC) do gene C9orf72, desarranjo dos neurofilamentos e disfunção mitocondrial. (Oliveira *et al.*, 2006)

A excitotoxicidade mediada pelo glutamato parece ser um importante mecanismo fisiopatológico na ELA esporádica e familiar. A sinapse dos neurônios motores tem como neurotransmissor excitatório o glutamato e, em condições normais, o excesso de glutamato liberado na sinapse é recaptado, principalmente pelos astrócitos, por meio dos transportadores de aminoácidos excitatórios do tipo 2 (EAAT-2). Acredita-se que na ELA ocorra uma redução dessa recaptação de glutamato devido à redução e inibição do EAAT-2, levando ao aumento de suas concentrações séricas e líquóricas. O excesso de glutamato na sinapse leva a uma ativação excessiva dos receptores inotrópicos pós-sinápticos, levando a um aumento dos níveis intracelulares de cálcio, que, por sua vez, ativam uma cascata de eventos que levam à morte neuronal através da ativação de vias enzimáticas dependentes de cálcio, degradação proteica com dano ao ácido nucleico, peroxidação lipídica e disfunção mitocondrial (Oliveira *et al.*, 2006).

Diversos achados corroboram essa hipótese. Estudos identificaram redução da expressão e da atividade do EAAT-2 no córtex motor e medula espinhal de pacientes com ELA e modelos de camundongos transgênicos para SOD1. Outro estudo demonstrou ativação da caspase-1 (um inibidor do EAAT-2) em modelo de camundongo transgênico para SOD-1 antes do início da degeneração do neurônio motor na ELA (Vucic *et al.*, 2014).

Por outro lado, foram também estudados os receptores pós-sinápticos, em especial o receptor AMPA-permeável ao cálcio, cuja subunidade GluR2 estava ausente. A GluR2 regula a permeabilidade ao cálcio desses receptores e sua ausência aumenta a permeabilidade desse

ion. Foi descoberto que na ELA há um aumento da expressão do receptor AMPA que não apresentava a subunidade GluR2. Esse receptor defeituoso parece ser específico da ELA, aumentando a susceptibilidade do neurônio motor à excitotoxicidade do glutamato. Convém destacar também que na ELA os neurônios motores apresentam uma redução da capacidade de tamponamento do cálcio, o que os torna mais vulneráveis à degeneração (Vucic *et al.*, 2014).

O Riluzol é o único medicamento com eficácia comprovada. Sua ação antiglutamatérgica reduz a excitotoxicidade mediada pelo glutamato e, conseqüentemente, aumenta a sobrevivência dos pacientes em 3 a 6 meses (Kiernan *et al.*, 2011; Vucic *et al.*, 2014). Parece ser mais eficaz nos pacientes com a forma inicial bulbar (Vucic *et al.*, 2014). Além do tratamento medicamentoso é necessária uma abordagem multidisciplinar (médico, enfermeiro, fisioterapeuta, fonoaudióloga, psicóloga) para acompanhamento e tratamento das complicações secundárias (Kiernan *et al.*, 2011).

Um conceito recente na patogênese da ELA trata do papel da neuroinflamação na mediação da morte dos neurônios motores. Essa nova fronteira de pesquisa, além de ter potencial para ampliar a compreensão acerca dos mecanismos neurobiológicos implicados na fisiopatologia da doença, pode eventualmente redundar em novas perspectivas terapêuticas da ELA. (Corcia *et al.*, 2012)

A neuroinflamação envolve não só a ativação das células da glia (astrócitos e micróglia), como também a infiltração de linfócitos T. Existem vários possíveis mecanismos envolvidos, dentre eles, a redução da liberação de fatores neurotróficos e aumento da secreção de fatores neurotóxicos, além da modulação da expressão do receptor glutamatérgico (Corcia *et al.*, 2012), já descrito anteriormente.

Estudo utilizando tomografia por emissão de pósitrons (PET) evidenciou aumento da ativação microglial no córtex motor primário, córtex motor suplementar e córtex temporal em pacientes recém-diagnosticados com ELA, que ainda não faziam uso de riluzol, em comparação com os controles (Corcia *et al.*, 2012).

Estudos em modelos de camundongos transgênicos para o gene SOD-1 demonstraram que os astrócitos que expressavam a mutação exerciam efeitos tóxicos em cultura de neurônios motores primários (Haidet-Phillips *et al.*, 2011) e que a inibição desse gene mutante reduziu de forma significativa a progressão da doença (Yamanaka *et al.*, 2008). O

estado de ativação das células da glia e dos linfócitos T parece ter influência na taxa de progressão da doença e não no mecanismo inicial (Boillee *et al.*, 2006; Henkel *et al.*, 2009).

A disfunção mitocondrial e o desarranjo dos neurofilamentos, que exercem um importante papel estrutural celular, além de auxiliar no transporte axonal, podem levar à degeneração neuronal; entretanto, não está bem estabelecido se esses seriam eventos primários ou secundários na ELA (Vucic *et al.*, 2014).

1.1.5 FATORES GENÉTICOS

A ELAf segue na maioria dos casos um padrão de herança autossômica dominante. Até o momento, 16 *locus* (Vucic *et al.*, 2014) foram identificados como sendo responsáveis pelas mutações (ALS1 – ALS16), sendo as mais comuns nos genes C9orf72 e SOD1 (ALS1), seguidos pelos genes ALS2 (ALS2), SETX (ALS4), SPG11 (ALS5), FUS (ALS6), VAPB (ALS8), ANG (ALS9), TARDBP (ALS10), FIG4 (ALS11), OPTN (ALS12), ATXN2 (ALS13), VCP (ALS14), UBQLN2 (ALS15) - (MCCLUSKEY *et al.*, 2012). ALS3 e ALS7 não são associadas a um gene específico, e sim, aos cromossomos 18q21 e 20p13 respectivamente. Por outro lado, também foi evidenciada a presença de mutações em alguns casos de ELAe, sendo as mais encontradas nos genes TARDBP, C9orf72 e SOD1, seguidas pelos genes ANG, FUS, OPTN e SETX (Mccluskey *et al.*, 2012). Uma etiologia genética já foi identificada em cerca de 20% dos casos de ELA aparentemente esporádica (sem história familiar) e em 60% dos casos de ELAf (Vucic *et al.*, 2014).

A superóxido dismutase tipo 1 (SOD1) é uma enzima que neutraliza radicais livres produzidos pelo metabolismo oxidativo neuronal, agindo sobre o superóxido (O_2^-). O O_2^- é transformado em água oxigenada (H_2O_2), que posteriormente é transformada em água (H_2O) pela ação da catalase. Já foram descritas mais de 166 mutações no gene da SOD1, localizado no cromossomo 21, correspondendo a 14-23% dos casos de ELAf e 1-7% dos casos de ELAe (Vucic *et al.*, 2014). Essas mutações levam a diversos fenótipos distintos e há evidências de variações inter e intra-familiares decorrentes de fatores externos em pacientes que apresentam a mesma mutação. A sua importância na patogênese da ELA é explicada por três mecanismos:

ganho tóxico de função (proteína SOD1 tóxica), alteração conformacional e perda de sua função original (Vucic *et al.*, 2014).

A ação tóxica da SOD1 atua por diversos mecanismos: formação de agregados intracelulares devido ao aumento da ligação com a proteína ubiquitinina (proteína que marca proteínas defeituosas nocivas), alteração de proteassomos (sistema responsável pela destruição de proteínas anormais), efeito amiloide e lesão secundária de mitocôndrias (Oliveira *et al.*, 2006).

A alteração conformacional promove instabilidade proteica e consequente formação de agregados intracelulares. A gravidade da doença parece ter correlação com o grau de instabilidade da SOD1 mutante (Vucic *et al.*, 2014). O mecanismo pelo qual a formação dos agregados leva à neurodegeneração ainda não foi elucidado.

A perda da sua função original levaria ao aumento do estresse oxidativo pela ação dos radicais livres, ativação da via de apoptose e consequente morte neuronal. Há controvérsia em relação à verdadeira contribuição deste mecanismo na patogênese da ELA, visto que foram encontradas taxas de atividade normal de SOD1 em pacientes portadores de mutações específicas desse gene. Além disso, não foi encontrada correlação entre a atividade da superóxido e a gravidade da doença, associado ao fato de que os antioxidantes não foram eficazes como tratamentos (Azambuja, 2006).

Expansões repetidas de hexanucleotídeos (GGGGCC) do gene C9orf72, localizado no cromossomo 9p21, com padrão de herança dominante foi descoberta em estudos recentes e trouxe grandes contribuições para a elucidação da patogênese da ELA (Azambuja, 2006).

Estudo publicado por Byrne *et al.* em 2012 encontrou a mutação do C9orf72 em 41% dos casos de ELA_f e 5% dos casos de ELA_e. Os pacientes com a mutação apresentavam início dos sintomas mais precoce (média de idade 56,3 versus 61,3 anos), maior frequência de demência frontotemporal (DFT) associada (50% versus 12%) e menor sobrevida média (20 versus 26 meses). Outro dado interessante é que a mutação não foi encontrada nos pacientes que apresentavam cognição preservada e sem história familiar de doença neurodegenerativa.

Essa associação com o espectro ELA, ELA-DFT e DFT sugere que há sobreposições genotípica e fenotípica entre ELA e subtipos de DFT, particularmente a degeneração lobar frontotemporal com histologia com inclusões do tipo “transactive response DNA-binding protein with Mr 43 kDa” (TDP-43) e do subtipo com histologia associada à mutação do gene

“fused in sarcoma” (FUS) (Boxer *et al.*, 2013). O mecanismo fisiopatológico comum que causaria a neurodegeneração nesses casos não está bem definido.

Mutações nos genes TARDBP e FUS, que estão envolvidos no processamento do RNA, foram associados a 4-6% dos casos de ELA_f e 0,7-2% dos casos de ELA_e (Vucic *et al.*, 2014). O gene TARDBP codifica a proteína TDP-43 e o gene FUS a proteína com o mesmo nome. Essas proteínas são transportadas para o núcleo, porém as mutações em seus respectivos genes levam à criação de proteínas mutantes que, ao invés de serem transportadas para o núcleo, permanecem no citoplasma interferindo no metabolismo e regulação do RNA além de formarem grânulos de estresse oxidativo que levam à neurodegeneração. O acúmulo citoplasmático de TDP-43 e FUS também é observado no espectro ELA/ELA-DFT/DFT (Seelaar *et al.*, 2011).

1.1.6 CRITÉRIOS DE DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de ELA era feito baseado nos critérios revisados do El Escorial (Brooks *et al.*, 2000), também conhecidos como critérios de Airlie House (tabela 1). Em 2008, foram propostos novos critérios conhecidos como Critérios de Awaji para o diagnóstico de ELA (tabela 2), com objetivo de aumentar a sensibilidade sem, entretanto, reduzir a especificidade (Carvalho *et al.*, 2008).

Quadro 1- Critérios de Airlie House – El Escorial revisado (1998)

ELA clinicamente definitiva	<i>Evidência clínica isolada de acometimento do NMS e NMI em três regiões.</i>
<i>ELA clinicamente provável</i>	<i>Evidência clínica isolada de acometimento do NMS e NMI em pelo menos duas regiões com algum sinal do NMS rostral (acima) ao do NMI</i>
<i>ELA clinicamente</i>	<i>Evidência clínica de disfunção do NMS e NMI em apenas uma região, ou acometimento isolado do NMS numa região com acometimento do NMI definido por critérios de eletromiografia em pelo menos dois membros, juntamente com a aplicação apropriada de neuroimagem e protocolos laboratoriais clínicos que excluam outras causas.</i>

<i>provável – com suporte laboratorial</i>	
<i>ELA possível</i>	<i>Evidência clínica de disfunção do NMS e NMI em apenas uma região, ou acometimento do NMS isolado em duas ou mais regiões; ou acometimento do NMI rostral (acima) ao do NMS e o diagnóstico de ELA clinicamente provável com suporte laboratorial não possa ser provado.</i>
<i>ELA suspeita</i>	<i>Evidência clínica isolada de acometimento do NMS ou do NMI em 1 ou mais regiões</i>

Divide-se o corpo em quatro regiões: cranial (bulbar), cervical, torácica e lombossacra.

NMS: neurônio motor superior, NMI: neurônio motor inferior

Quadro 2- Critérios de Awaji 2008

<i>ELA definida</i>	<i>Evidência clínica ou eletrofisiológica de sinais de degeneração de NMI e NMS na região bulbar e em pelo menos duas regiões da medula espinhal (cervical, torácica ou lombossacra) ou a presença de sinais de NMI e NMS em três regiões da medula espinhal</i>
<i>ELA provável</i>	<i>Evidência clínica ou eletrofisiológica de degeneração de NMI e NMS em pelo menos duas regiões com algum sinal de NMS rostral (acima) aos sinais de NMI</i>
<i>ELA possível</i>	<i>Evidência clínica ou eletrofisiológica de degeneração de NMI e NMS em apenas uma região, ou sinais de NMS isolados em duas ou mais regiões, ou sinal de NMI rostral (acima) aos sinais de NMS</i>

*Princípios: O diagnóstico de ELA exige: (A) A **presença de:** (1) evidência de degeneração do neurônio motor inferior (NMI) pelo exame clínico, eletrofisiológico ou neuropatológico; (2) evidência de degeneração do neurônio motor superior (NMS) pelo exame clínico e; (3) disseminação progressiva dos sinais e/ou sintomas de uma região para outras, determinado pela história, exame físico ou eletrofisiológico. (B) **Ausência de:** (1) evidência eletrofisiológica ou patológica de outras doenças que poderiam explicar os sinais de degeneração do NMI e / ou NMS, e (2) neuroimagem sugestiva de outras doenças que poderiam explicar os sinais clínicos e eletrofisiológicos observados.*

A Doença de Huntington é uma doença neurodegenerativa hereditária causada por uma expansão da repetição de CAG no gene de huntingtina, resultando na expansão de uma poliglutamina (poli Q) da região próxima a N-terminal da proteína huntingtina (Htt)

(Maccdonald *et al*, 1993). Esta proteína mutante se acumula e produz a desregulação da transcrição, autofagia, disfunção mitocondrial, disfunção metabólica, estresse oxidativo, apoptose, neuroinflamação e, conseqüentemente a neurodegeneração, especialmente no corpo estriado (Maccdonald *et al*, 1993; Ross *et al*, 2011). Esta perda progressiva de neurônios, notavelmente nos núcleos da base e córtex cerebral, resulta no agravamento da coréia, e surgimento de distúrbios cognitivos e psiquiátricos (Kent, 2004). Indivíduos com a DH podem desenvolver sintomas a qualquer tempo entre as idades que variam de 1 a 80 anos (Myers, 2004) Ainda não existe um tratamento específico para a DH. O que existe são alguns tratamentos para os distúrbios motores e psiquiátricos apresentados ao pelo paciente (Walker, 2007).

Tanto nos casos de ELA quanto HD, a perda progressiva dos neurônios leva a uma grave redução na qualidade e expectativa de vida dos pacientes. Sendo assim, torna-se urgente a busca de novos alvos farmacológicos para o tratamento destas doenças neurodegenerativas (WHO, 2007).

1.1.7 TRATAMENTO

Apesar de ainda não existir um tratamento definitivo para a ELA, os pacientes podem se beneficiar de alguns medicamentos que são utilizados na tentativa de prolongar sua sobrevivência; técnicas como a ventilação não invasiva e a gastroenterologia, capazes de alterar a progressão da doença; a atuação da fisioterapia para tentar manter a independência funcional e melhorar sua qualidade de vida; bem como a de uma equipe multiprofissional (Zuardi, 2012).

Um exemplo de medicação bastante utilizada é o Riluzol que é um inibidor da liberação de glutamato (Bensimon *et al*, 1994). Sua eficácia é maior nas fases iniciais da doença, prolongando a vida do paciente em 3 meses ou mais (Rotta, 2009). Porém, como todo medicamento, apresenta efeitos colaterais, tais como: náuseas e vômitos, dores de cabeça e abdominais, tontura, taquicardia, sonolência e alterações de sensibilidade perioral.

Recentemente, inibidores de Miostatina, que é um fator de crescimento, têm sido testados em ratos portadores de ELA e tem demonstrado aumento da massa e força muscular nas fases iniciais da doença, inclusive no diafragma. Esses dados são promissores e sugerem

que esta terapia possa ter importante papel na qualidade de vida de pacientes com ELA (Holzbaur *et al*, 2006).

1.2 DOENÇA DE HUNTINGTON

1.2.1 HISTÓRICO

A DH foi descrita como uma entidade distinta em 1872 (Huntington, 1872). Antes disso, não se fazia diferenciação entre esta e outras condições que apresentavam a coreia como manifestação.

Do século XIV, período da Peste Negra, há relatos de uma epidemia que ficou conhecida como “A Mania Dançante” ou coreomania, caracterizada por excitação e grande atividade. Esta manifestação se iniciou na França mas logo atingiu a Alemanha e posteriormente Estrasburgo, onde recebeu a denominação de Dança ou Coreia de São Vito, um mártir cristão do século XIV invocado para proteger os sofredores deste mal. Esta doença atingiu outros países europeus e recebeu diversos nomes e explicações, mas atualmente considera-se que a coreomania da Idade Média não tivesse base orgânica, mas fosse uma manifestação psicológica ou de superstição. Apesar disso, é possível que entre esses casos já houvesse manifestações da coréia verdadeira, de etiologias variadas, inclusive a hereditária (Bruyn, 1968).

Apenas no século XVI, o termo coréia passou a ser utilizado para a indicação de doenças orgânicas, por Paracelsus, que também foi um dos primeiros a reconhecer que a coreia poderia ter diferentes etiologias (Hayden, 1981).

No século XVII, Thomas Sydenham descreveu a coreia na infância, iniciando as associações entre coréia e etiologias específicas. Apesar desses avanços, no século XIX, ainda havia grande confusão sobre as possíveis causas e nomenclaturas destes movimentos. Este panorama começou a se modificar em 1832 quando Ellitson, na Inglaterra, em uma conferência sobre a Dança de São Vito, mencionou a hereditariedade como possível causa da

coréia em adultos. Neste mesmo século, inúmeras descrições de casos de coréia hereditária foram publicadas, mas ela só foi descrita como uma entidade distinta em 1872, por George Huntington, que publicou o artigo intitulado “*On Chorea*”, no *Philadelphia Medical and Surgical Reporter*. Na descrição da forma familiar, chamada de “Coreia Hereditária”, Huntington realçou três particularidades da doença: sua natureza hereditária, tendência à insanidade ou suicídio e manifestação, como doença grave, apenas na vida adulta. A partir desta descrição seu nome foi associado à doença em todo o mundo (Bruyn, 1968).

Atualmente o termo doença de Huntington é preferido, pois embora a presença de movimentos involuntários seja uma característica marcante da doença, ela se apresenta como uma grande variabilidade de manifestações (Azambuja, 2006).

1.2.2 A DOENÇA

O início da DH é insidioso, sendo difícil o estabelecimento preciso da idade em que os primeiros sintomas aparecem. Normalmente ela se manifesta por volta dos 35 a 44 anos de idade (Harper, 1996), mas pode ocorrer nos extremos etários, apresentando características clínicas peculiares. O tempo médio de sobrevivência em diversos estudos varia de 14 a 17 anos e segundo levantamento feito por Hayden (1981), que resgatou 4000 casos de 16 diferentes publicações, a idade de óbito varia de 51,4 a 56,9 anos.

No início da DH a queixa mais frequente é a incoordenação e a ocorrência de movimentos involuntários coreicos em diversos segmentos corpóreos. Apesar disso, uma pequena parte dos pacientes nunca desenvolve coréia típica, mas sim um quadro de rigidez. Também é comum a dificuldade para realizar movimentos faciais complexos, uma forma de apraxia buço-facial que muitas vezes se apresenta antes do início claro da coréia (Hayden, 1981).

Alterações comportamentais são frequentes e muitas vezes precedem a desordem do movimento em uma década ou mais. Os sintomas de natureza emocional ou alteração de personalidade, associados ou precedendo os movimentos coreicos são relatados em mais da metade dos pacientes com diagnóstico de DH (Folstein *et al.*, 1986). O declínio cognitivo também já se manifesta nas fases iniciais da doença, assim como o comprometimento

funcional. Precocemente os pacientes relatam dificuldades ocupacionais e na realização de tarefas do cotidiano (Hayden, 1981).

1.2.3 EPIDEMIOLOGIA

A DH já foi descrita em praticamente todos os países e afeta todas as raças, embora pareça haver maior frequência do gene em indivíduos de origem caucasiana. Estudos genealógicos apontam a região noroeste da Europa como o provável berço desse gene, que teria se espalhado pelo mundo a partir da imigração européia, nos séculos 17 e 18 (Herper, 1996).

A DH afeta da mesma forma ambos os sexos e sua prevalência na população ocidental é de 30 a 70 indivíduos por milhão de habitantes (Haddad e Cummings, 1997).

1.2.4 FISIOPATOLOGIA

A degeneração dos núcleos da base, especialmente do estriado, é o achado neuropatológico da DH. Atrofia e gliose das regiões palidais (globo pálido lateral e medial e parte reticulada da substância negra) também são visíveis, mas não há perda neuronal evidente nestas estruturas. Em fases mais avançadas atrofia cortical difusa também é observada, com perda de massa cortical e substância branca (Morris, 1995).

Os núcleos da base são um conjunto de estruturas subcorticais interconectadas que recebem importantes aferências do córtex cerebral e do tálamo e enviam suas eferências de volta para o córtex e para o tronco encefálico (Kandel, 1991).

Os núcleos aferentes são representados pelo estriado, composto pelo núcleo caudado, putâmen e pelo estriado ventral (que inclui o núcleo acumbens). Estes núcleos recebem conexões aferentes de outras regiões do encéfalo e se projetam para os núcleos intrínsecos e de saída. Atualmente acredita-se que haja uma considerável segregação de funções no

estriado, estando o putâmen mais envolvido com o processamento sensório-motor, o núcleo caudado com os processos visuais e cognição e o estriado ventral com os processos cognitivos e motivação (Sánchez-Pernaute *et al.*, 2000).

O segmento interno do globo pálido (Gpi), o pálido ventral e a parte reticulada da substância nigra (SNr) representam os núcleos eferentes, que se projetam para as regiões do cérebro e do tronco cerebral (Azambuja, 2006).

Os núcleos da base são conhecidos por sua importante participação na execução dos movimentos voluntários normais. Danos nestes núcleos podem resultar em distúrbios dos movimentos, que podem estar diminuídos, como na Doença de Parkinson (DP0, ou exagerados, como na DH (Azambuja, 2006). Entretanto, disfunções nesta região também têm sido relacionadas a mudanças numa variedade de funções cognitivas e comportamentais, incluindo aprendizagem, linguagem, personalidade e comportamento social (Richfield *et al.*, 1987). A participação dos núcleos da base em funções cognitivas se dá através de suas inúmeras conexões com diversas áreas corticais, especialmente o lobo frontal, através dos circuitos cortico-estriatais (Alexander *et al.*, 1986).

Os cinco circuitos mais conhecidos são: motor, oculomotor, dorsolateral pré-frontal, orbitofrontal lateral e do cíngulo anterior (Cummings, 1993). O conhecimento dos circuitos fronto-estriatais permite a compreensão das desordens neuropsiquiátricas, dos distúrbios comportamentais e das alterações neuropsicológicas encontradas nos casos de distúrbios do movimento, entre eles a DH (Azambuja, 2006).

1.2.5 FATORES GENÉTICOS

A DH é causada por uma expansão dos trinucleotídeos citosina-adenosina-guanina (CAG), na região 4p16.3 do braço curto do cromossomo 4 (Gilliam *et al.*, 1987).

Indivíduos normais apresentam entre 10 e 26 repetições de CAG nesta região, com a grande maioria variando entre 15 e 20 repetições. Quando há 40 ou mais repetições o gene tem penetrância completa e os portadores certamente manifestarão a doença durante a vida.

Entre 36 e 41 repetições a penetrância é intermediária e há instabilidade meiótica, significando que o indivíduo pode desenvolver a DH (especialmente se tiver uma vida longa) e pode ou não passar esta repetição expandida a seus filhos. Entre 27 e 35 repetições o indivíduo não vai desenvolver a doença, mas pode passar uma repetição expandida a seus filhos. (The American College of Medical Genetics/American Society of Human Genetics Huntington Disease Genetic Testing Working Group - ACMG/ASHG, 1998).

Há uma forte relação inversa entre o número de repetições de CAG e a idade de início dos sintomas, o que também foi verificado em estudo com pacientes brasileiros (Tumas *et al.*, 2004). Os indivíduos que manifestam a forma juvenil da doença quase sempre apresentam número de repetições maior que 60. Abaixo deste número, entretanto, não é possível estabelecer uma correlação exata entre o número de repetições e a idade de aparecimentos dos sintomas, sendo que 50% da variabilidade na idade de início depende do número de repetições (ACMG/ASHG, 1998).

Estudos sobre a estabilidade no número de repetições CAG na DH indicam que quando a mãe passa o gene para a criança, há um aumento ou diminuição de 3 ou 4 repetições. No caso da transmissão paterna, entretanto, a instabilidade no número de repetições é muito maior, sendo que pode haver um aumento marcante no número de repetições (Snell *et al.*, 1993). Isto explica porque na maioria dos casos de DH juvenil a herança foi transmitida pelo pai. Também permite compreender a origem do aparecimento de mutações espontâneas na DH (Andrew *et al.*, 1993).

O gene da DH codifica uma proteína de aproximadamente 300 kilodaltons, a huntingtina cuja função ainda não é conhecida, embora se acredite que tenha um papel no funcionamento normal da célula. A huntingtina localiza-se no citoplasma das células somáticas e no citoplasma e núcleos dos neurônios (Hoogeveen *et al.*, 1993).

O mecanismo de morte celular na DH ainda não foi esclarecido, mas como em outras doenças neurodegenerativas relacionadas com agregação de proteínas, muitos mecanismos podem estar envolvidos, como excitotoxicidade, danos por radicais livres, inibição da transcrição, sequestro de proteínas e proteossomas, ativação de caspase e apoptose. (Azambuja, 2006).

Atualmente, três teorias tentam explicar como a proteína mutante produziria a doença: a teoria da perda da função, a teoria do ganho de função e a teoria da inibição dominante, não mutuamente excludentes. (Brown *et al.*, 2003).

O *Brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), fator neurotrófico produzido no córtex, que regula a plasticidade sináptica, a neurogênese e a sobrevivência dos neurônios no cérebro adulto, é enviado ao estriado, para que este possa suportar o processo de excitotoxicidade que há estimulação glutamatérgica cortico-estriatal. No citoplasma do neurônio cortical, entretanto, está presente o fator silenciador da transcrição de BDNF (REST). A teoria da perda da função é corroborada pela descoberta de que uma das funções da huntingtina seria manter o REST no citoplasma do neurônio cortical, levando à redução da produção de BDNF, à conseqüente morte dos neurônios estriatais e posteriormente à própria morte de neurônios corticais (Brown *et al.*, 2003).

Na teoria de ganho de função a proteína anômala teria função diferente da habitual, e seria tóxica aos neurônios estriatais. De forma simplificada, a fita anormalmente longa de huntingtina mutante desencadearia processos de apoptose neuronal (a huntingtina é substrato da *Cysteinylnl aspartic acid specific protease* – caspase 3). A proteína alterada também poderia inibir ou impedir o funcionamento normal da huntingtina (teoria da inibição dominante) (Azambuja, 2006).

Desde a descoberta do gene, em 1993 (The Huntington's Disease Collaborative Research Group – THDCRG, 1993), ensaios com método de reação em cadeia (PCR) foram desenvolvidos e tornaram possível determinar o número de repetições em qualquer amostra contendo o DNA. Assim, atualmente é possível firmar um diagnóstico definitivo da DH, mesmo nos casos pré-sintomáticos e pré-natais. A utilização dos testes genéticos em indivíduos em risco para a DH ainda envolve grande discussão ética (Azambuja, 2006).

1.2.6 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico clínico da DH leva em conta amamnese e história familiar positiva. Os critérios clínicos utilizados internacionalmente foram propostos por Folstein *et al.* (1986), que estabelecem:

A- DH Definida: Presença de coréia ou alteração característica do movimento voluntário não presente ao nascimento, insidiosa e progressiva e história familiar positiva, com pelo menos um ou outro membro acometido com sintomas típicos da DH. Demência e sintomas de ordem psiquiátrica, embora usualmente presentes, não são suficientes isoladamente para o diagnóstico.

B- Provável: mesmas características clínicas descritas anteriormente, mas sem possibilidade de obtenção da história familiar, por adoção ou paternidade desconhecida.

C- DH Possível: quadro clínico típico, mas sem história familiar, a despeito da investigação genealógica adequada.

Atualmente o diagnóstico da DH pode ser confirmado através de exame genético com teste de reação em cadeia de polimerase (PCR) que permite especificar o número de repetições CAG em amostra contendo DNA.

1.2.7 TRATAMENTO

O tratamento da DH tem como objetivo o alívio dos sintomas, visto que não há, até o momento, nenhuma droga que possa alterar o curso natural da doença.

Para a redução dos movimentos involuntários são utilizados antagonistas dopaminérgicos, pois se acredita que haveria uma hiperfunção dopaminérgica, ao menos relativa, contribuindo para os movimentos coreicos na DH. As drogas mais utilizadas têm sido reserpina, tetrabenazina e haloperidol. (Haddad, 1995).

O efeito dos neurolépticos nas funções cognitivas é controverso, e não foram encontradas referências sobre essa relação em indivíduos com DH. Apesar disso, estudos com diferentes populações (indivíduos com esquizofrenia e psicose) referem melhora das funções cognitivas após seu uso (Brunnauer *et al.*, 2003; Keefe *et al.*, 2004).

A depressão na DH é tratada com medicamentos antidepressivos tricíclicos convencionais (imipramina, nortriptilina ou amitriptilina) ou com inibidores da recaptação de serotonina – ISRS (sertralina). Sintomas psicóticos, quando presentes, podem ser tratados com neurolépticos, mas a resposta nem sempre é satisfatória. Alterações de humor, ansiedade e irritabilidade excessiva podem ser tratadas com benzodiazepínicos e pacientes agressivos

podem se beneficiar do uso de neurolépticos, assim como de antidepressivos (Haddad, 1995). Os antidepressivos ISRS, como sertralina e fluoxetina, têm sido os mais utilizados (Haddad, 1995).

Não foram encontrados trabalhos sobre a interferência dos antidepressivos nas funções cognitivas de indivíduos com DH, entretanto, há evidências de que a melhora da depressão está associada à melhora cognitiva em diferentes populações (Bodareff *et al.*, 2000; Siepmann *et al.*, 2003; Doraiswamy *et al.*, 2003).

Segundo Marder *et al.* (2000) não há relatos de nenhuma medicação específica que afete o declínio funcional em indivíduos com DH.

Os tratamentos de apoio como fisioterapia, terapia ocupacional, acompanhamento fonoaudiológico, nutricional e psicoterápico têm o intuito de favorecer a independência nas atividades de vida diária, a participação social e a melhora da qualidade de vida dos doentes (Bilney *et al.*, 2003).

2 OBJETIVO

Apresentar possibilidades de terapias multimodais e neuroprotetoras para ELA e DH, empregando potenciais alvos que possam ser explorados no futuro.

3 MÉTODOS

Realizou-se revisão bibliográfica de artigos científicos na base de dados Pubmed. Utilizou-se como descritor: “*neurodegenerative diseases*”, “*Huntington’s disease*”, “*amyotrophic lateral sclerosis*”, “*neuroprotection*”, “*neurodegeneration*”, “*treatment*”. Foram incluídos os artigos publicados desde os anos 80 até o ano de 2015 e excluídos os artigos que não apresentaram os descritores citados anteriormente.

4 NOVOS ALVOS FARMACOLÓGICOS PARA ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA

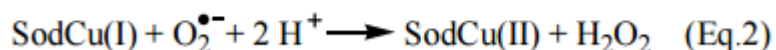
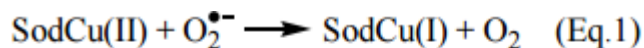
Segundo Gordon *et al* (2011), há indícios que mostram aumento da disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, ativação autofágica, ativação de apoptose e agregação mitocondrial presentes na patogênese da ELA. Serão discutidos abaixo alguns alvos farmacológicos interessantes para deter a neurodegeneração causada por esta doença (Siciliano, 2010).

4.1 Função mitocondrial

As mitocôndrias são organelas essenciais para a sobrevivência da célula devido a sua capacidade de: fornecer energia, tamponar o cálcio intracelular e regular a morte celular por apoptose (Kawamata *et al.*, 2010). Existe um grande interesse na descoberta de moduladores mitocondriais para tratamento da ELA (Kawamata *et al.*, 2010).

Aproximadamente 20% da ELA familiar (ELAf) apresenta mutações no gene da *SOD1* que codifica a proteína superóxido dismutase 1 (Higgins, 2001).

Em 1969, McCord & Fridovich descobriram a capacidade da eritrocuproína de catalisar o desproporcionamento do radical superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio (Equações 1 e 2) (McCord & Fridovich, 1969).



Até então, a eritrocuproína, extraída dos eritrócitos, bem como suas correlatas provenientes de outros tecidos, eram considerados simplesmente proteínas para o armazenamento de cobre. A partir do trabalho de McCord e Fridovich, a atividade enzimática da superóxido dismutase 1 (também conhecida como superóxido dismutase de cobre e zinco) foi determinada em diferentes tecidos bem como outras enzimas antioxidantes foram

descobertas, constituindo a base para a concepção da área de radicais livres e oxidantes em biologia (Fridovich, 1999).

A superóxido dismutase 1 (SOD 1) é composta por duas subunidades idênticas de 16 kDa formando um homodímero através de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas (Valentine *et al.*, 2005). Além disso, cada subunidade da SOD 1 contém um íon de cobre, um de zinco e uma ligação dissulfeto intramolecular (Figura 1). O íon de zinco e a ligação dissulfeto desempenham um importante papel estrutural na manutenção da conformação de alças da proteína que compreendem o canal iônico do sítio e também da interface entre as subunidades. O íon de cobre constitui o elemento catalítico responsável pelas reações de oxidorredução de desproporcionamento do radical superóxido (Equações 1 e 2). Ainda, as reações de desproporcionamento catalisadas pela SOD 1 são muito eficientes, pois possuem constantes de velocidades de segunda ordem, aproximadamente $10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, isto é, próximas do limite de difusão das espécies. (Valentine *et al.*, 2005; Halliwell *et al.*, 2007).

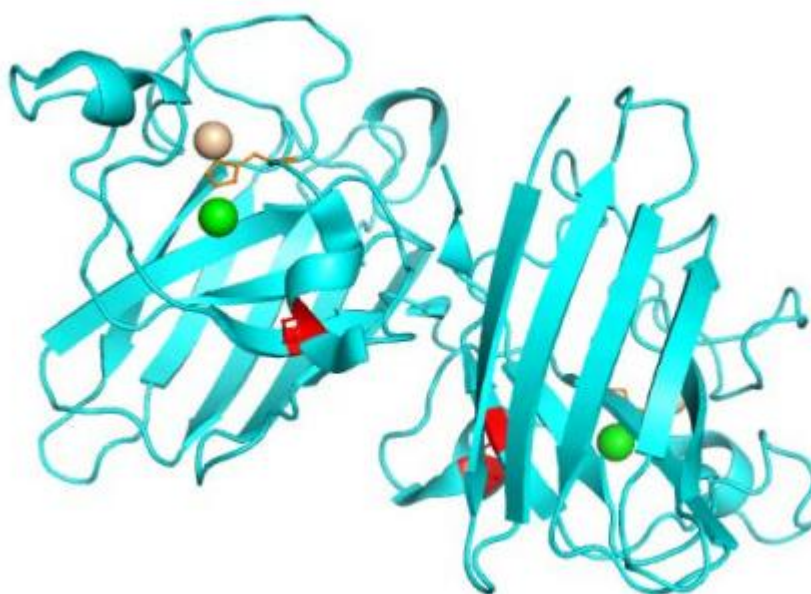


Figura 1. Estrutura cristalina da superóxido dismutase 1 humana. (Strange *et al.*, 2006). Os íons de cobre e zinco estão representados em verde e cinza, respectivamente. A ligação dissulfeto entre os resíduos Cys⁵⁷ e Cys¹⁴⁶ está representada em vermelho e o resíduo His⁶³, que coordena tanto o íons de cobre como o de zinco, em laranja.

O processamento pós-traducional da SOD 1 envolve diversas etapas. A inserção do íon de cobre e a formação da ligação de dissulfeto são assistidas pela chaperona de cobre para

a SOD1 (CCS, do inglês) (Cullota *et al.*, 1997; Wong *et al.*, 2000, Furukawa *et al.*, 2004). Contudo, a inserção do íon de zinco deve ocorrer previamente ao processamento pela CCS, mas esta etapa primordial permanece desconhecida (Furukawa *et al.*, 2004). Após seu processamento pós-traducional, isto é, inserção dos íons de zinco e cobre e formação da ligação dissulfeto, a SOD1 apresenta elevada estabilidade estrutural, sendo resistente a ataque proteolítico, aquecimento ($T_m = 95^\circ\text{C}$) e agentes desnaturantes como uréia, cloreto de guanidina (Gua-HCl) e dodecilsulfato de sódio (SDS) (Halliwell *et al.*, 2007).

A SOD1 se distribui predominantemente no citoplasma, mas também se encontra no núcleo, peroxissomo e espaço entre membranas da mitocôndria (Valentine *et al.*, 2005). Em vista do seu complexo processamento pós-traducional e de sua ampla distribuição intracelular, não surpreende o fato de parte da SOD1 apresentar-se imatura, ou seja, desprovida dos cofatores metálicos e da ligação dissulfeto (Petrovic *et al.*, 1996). De fato, sabe-se que a SOD1 é importada para o espaço entre membranas da mitocôndria na sua forma imatura enquanto seu papel neste compartimento permanece desconhecido (Field *et al.*, 2003; Okado-Matsumoto *et al.*, 2001, Sturtz *et al.*, 2001; Iñarrea *et al.*, 2005). Por fim, além de apresentar alta eficiência catalítica, a SOD1 também é uma proteína muito abundante, perfazendo aproximadamente 0,5% da proteína total em alguns tecidos, como a substância cinza do cérebro (Halliwell *et al.*, 2007).

A ELA ocorre tanto na forma esporádica, responsável por 90 a 95% dos casos, quanto a familiar. Dentre os casos familiares, aproximadamente 20% estão relacionados a mutações no gene *SOD1* que codifica a enzima antioxidante superóxido dismutase 1 (SOD1) (Rosen *et al.*, 1993; Valentine *et al.*, 2005). Em sua maioria, tais mutações levam a simples substituições de resíduos de aminoácidos que podem ocorrer em todas as regiões estruturais da proteína, podendo ainda causar inserções, deleções e truncamentos. Até o presente momento, mais de 100 mutações relacionadas a ELA foram identificadas (a lista atualizada pode ser encontrada no site www.alsod.org).

Apesar de muitas mutações levarem a redução ou perda de atividade enzimática da hSOD1, o caráter autossômico dominante da ELA nestes casos sugere um ganho de propriedade tóxica das proteínas mutantes como possível causa da doença (Andersen, 2006). Ainda, a ausência de degeneração dos neurônios motores em camundongos com deleção para o gene *SOD1* associa ao fato de camundongos transgênicos expressando mutantes da hSOD1

sofrerem degeneração dos neurônios motores e desenvolvimento de sintomas típicos de ELA corrobora a toxicidade das mutantes da hSOD1 relacionadas à doença (Reaume *et al.*, 1996; Gurney *et al.*, 1994). Contudo, a natureza tóxica das mutantes da hSOD1, bem como a razão para a morte seletiva dos neurônios motores em ELA, permanece em questão.

Digno de nota, a degeneração dos neurônios motores em ELA também depende da disfunção de astrócitos e da microglia, células do sistema nervoso responsáveis pelo fornecimento de nutrientes e reciclagem de neurotransmissores dos neurônios e pela defesa contra invasores, respectivamente (Ilieva *et al.*, 2009). De acordo com esta perspectiva, diversos eventos citotóxicos parecem contribuir para o quadro patogênico de ELA, como deficiência de fatores de crescimento, excitotoxicidade por glutamato, agregação de proteínas, defeito do transporte no axônio, inibição do proteassomo, disfunção mitocondrial e estresse oxidativo (Cozzolino *et al.*, 2008; Rothstein, 2009). Ainda, alguns destes fatores estão diretamente relacionados aos mecanismos moleculares propostos para explicar a toxicidade das mutantes da hSOD1 e devem constituir o cerne do processo neurodegenerativo. As duas hipóteses associadas à toxicidade das mutantes da hSOD1 em ELA não são mutuamente excludentes e conciliam diferentes mecanismos citotóxicos que compõem o quadro patogênico da doença (Medinas, 2010).

A primeira possibilidade está intimamente ligada à capacidade catalítica da enzima. Enquanto sua atividade enzimática em condições fisiológicas está atada à manutenção da homeostase celular pela eliminação do radical superóxido, em condições de estresse oxidativo a hSOD1 pode catalisar a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Basicamente, além de superóxido dismutase, a hSOD1 pode também atuar como peroxinitrito sintase, tiol oxidase e peroxidase (Beckman *et al.*, 2001; Winternbourn *et al.*, 2002; Wiedau-Pazos *et al.*, 1996). De fato, as evidências do envolvimento do estresse oxidativo na patologia de ELA são contundentes, destacando-se a presença de produtos de oxidação a biomoléculas tais como 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG) no DNA (Ferrante *et al.*, 1997), 4-hidroxi-2-trans-nonenal (HNE) em lipídeos (Zarkovic, 2003), 3-nitrotirosina e carbonilas em proteínas (Beal *et al.*, 1997; Shaw *et al.*, 1995), além de níveis diminuídos de glutathiona reduzida (GSH) (Lanius *et al.*, 1993).

A segunda hipótese considera o envelhecimento inadequado da hSOD1 levando ao acúmulo de hSOD1 imatura potencialmente citotóxica e susceptível à agregação. Conforme

discutido anteriormente, o processamento pós-traducional da hSOD1 envolve a chaperona do cobre para a SOD1 (CCS, do inglês) nas etapas de inserção do íon cobre e formação da ligação dissulfeto (Cullota *et al.*, 1997; Wong *et al.*, 2000; Furukawa *et al.*, 2004). Não obstante, a ação da chaperona CCS sobre a hSOD1 depende da inserção prévia do íon de zinco na enzima seguida do reconhecimento molecular das proteínas através da formação de um heterodímero CCS-SOD1 análogo ao homodímero da própria SOD1 (Furukawa *et al.*, 2006). Neste contexto, alguns estudos demonstraram *in vitro* que algumas mutantes da hSOD1 possuem menor afinidade pelo íon de zinco (Crow *et al.*, 1997), fato que pode compreender seu enovelamento *in vivo*.

Embora os agregados protéicos sejam uma característica marcante em ELA (Cleveland *et al.*, 2000), a agregação da hSOD1 não parece ser a causa primária de sua neurotoxicidade (Johnston *et al.*, 2000). Assim, a compreensão do papel de inclusões protéicas contendo hSOD1 na patologia de ELA necessita de esclarecimento tanto em relação à natureza das proteínas envolvidas no processo quanto aos mecanismos moleculares de agregação.

Chou *et al.* (1996) descreveram que aglomerados de neurofilamentos contendo tanto a hSOD1 quanto a enzima óxido nítrico sintase apresentaram marcação positiva para 3-nitrotirosina. Já, Andrus *et al.*, observaram carbonilas protéicas elevadas na mutante G93A da hSOD1 expressa em modelo de camundongo (Andrus *et al.*, 1998). De fato, danos oxidativos podem participar do processo de agregação protéica seja pela formação de ligações covalentes entre cadeias polipeptídicas (“crosslinking”, do inglês) ou pela ruptura da estrutura terciária de proteínas, ocasionando a exposição de resíduos hidrofóbicos e interações proteína-proteína inespecífica. Em vista disso, os agregados protéicos observados em ELA podem ser resultado das atividades oxidantes exacerbadas das enzimas mutantes (Roe *et al.*, 2002) que acarretariam modificações oxidativas em diferentes proteínas, dentre as quais, a própria hSOD1.

Em culturas de células, a toxicidade da mutante G93A da hSOD1 foi associada à oxidação do único resíduo de triptofano da proteína (Taylor *et al.*, 2007). *In vitro*, Zhang *et al.* (2003), mostraram que a oxidação do resíduo de triptofano da hSOD1 pelo radical carbonato produzido durante sua atividade peroxidásica leva à formação de um dímero covalente da proteína resistente a redutores de ligação dissulfeto. Gruzman *et al.* (2007), relataram a detecção de um possível dímero covalente da hSOD1 resistente a redutores de ligação

dissulfeto em pacientes esporádicos e familiares de ELA, mas não em pacientes de outras doenças neurodegenerativas, e sugerem que esta espécie possa responder por sua toxicidade aos neurônios motores.

Mito Q, um antioxidante mitocondrial, que contém a Quinona (antioxidante) ligado a um cátion lipofílico trifenilfosfônio (TPP), apresenta função neuroprotetora. Segundo Miquel *et al* (2014), a Mito Q acumula dentro da mitocôndria, *in vivo* e, esta é referêcia como um local intracelular específico para a geração de espécies reativas em várias patologias. Com isso, o Mito Q vêm sendo estudado para minimizar o dano oxidativo em vários modelos da ELA (Turner *et al.*, 2008). O modelo animal mais utilizado é o camundongo transgênico para ELA familiar ligado à mutação SOD1, que geralmente se desenvolve pela degeneração progressiva dos neurônios motores assemelhando às características em pacientes humanos (Turner *et al.*, 2008; Bachman *et al.* 2006).

4.2 Melatonina

Embora a glândula pineal seja conhecida a mais de 2000 anos, somente nos últimos 50 anos foram divulgados relatos sobre suas funções. Em 1958, o grupo de pesquisadores liderados por Aaron B. Lerner isolou a partir da glândula pineal de bovinos uma substância ativa que quando injetada na pele de anfíbios promovia a mudança de coloração causada pela agregação de melanina dentro dos melanóforos desses animais (Lerner *et al.*, 1958). Dessa forma, caracterizou-se tal substância ativa como melatonina (N-acetil-5-metoxi-triptamina). Desde então houve grande interesse nos estudos dessa substância, abrindo campo para diversas linhas de pesquisa. Contudo, muitas funções da glândula pineal e da melatonina ainda continuam a ser descobertas (Karesek *et al.*, 2006).

A melatonina é um hormônio produzido pela glândula pineal na fase de escuro do ciclo claro/escuro ambiental, possuindo um ritmo de liberação bem definido. Este hormônio

vem sendo bem estudado durante as últimas décadas e já se sabe que também pode ser produzido por outras células e tecidos participando de diversas funções fisiológicas e fisiopatológicas. Sua função mais conhecida é como “marcador do tempo”, indicando ao organismo as fases do dia e da noite e também das estações do ano. O papel da melatonina como “molécula fotoperiódica” foi caracterizado em estudos sobre a reprodução sazonal de algumas espécies, embora a sua influência reguladora em humanos continue sob investigações (Lima, 2011).

Na Esclerose Lateral Amiotrófica, os efeitos mais promissores de melatonina são aqueles que bloqueiam a via apoptótica e reduzem o dano oxidativo. Os mecanismos dos efeitos anti-apoptóticos da melatonina ainda não estão completamente claros, embora as mitocôndrias tenham sido identificadas como alvo (Le'on *et al.*, 2005).

Como a melatonina apresenta neuroproteção celular tanto em humanos quanto em modelos de animais pra ELA e, além de não ser tóxica, por ser bem tolerada em altas doses e atravessar facilmente a barreira hematoencefálica, pode ser considerada como um novo alvo farmacoterapêutico para ELA (Wheisaupt *et al.*, 2006).

4.3 Agregação de proteína: autofagia

A autofagia é um mecanismo catabólico básico envolvido na degradação de componentes disfuncionais através da ação do lisossomo. E está relacionada a vários processos fisiológicos como a reciclagem de proteínas e organelas, resposta ao estresse, diferenciação celular, morte celular programada, dentre outros, bem como a condições patológicas (Rami, 2009).

Uma das consequências das mutações genéticas envolvidas nas doenças neurodegenerativas é o aparecimento do enovelamento incorreto dos agregados protéicos (Weishaupt *et al.*, 2006). Estes agregados podem ser tóxicos e afetar organelas, como as mitocôndrias, causando ruptura da membrana. Estudos de Zhang *et al* (2008) mostraram que a depuração destes agregados proteicos podem constituir uma intervenção terapêutica. Na ELA, a associação entre a doença e a proteína de agregação altera a autofagia, que é inicialmente

observada em estudos morfológicos de tecidos da medula espinhal em pacientes com ELA, mostrando aumento no número de autofagossomos (Li *et al.*, 2008; Morimoto *et al.*, 2007). Desta forma, evidências sobre o comprometimento na autofagia podem apresentar um papel importante na neurodegeneração (Morimoto *et al.*, 2007).

4.4 Endocanabinoides

O sistema endocanabinoide é conhecido por atuar na modulação de vários processos no organismo, como função antioxidante, anti-inflamatória, neuroprotetora e outras atividades como a melhora do apetite, ansiedade e depressão (Castillo *et al.*, 2013). Entretanto, ainda existem controvérsias em relação às aplicações terapêuticas do sistema endocanabinoide, tais como, se o efeito terapêutico é alcançado pelo agonismo de antagonismo dos receptores canabinoides, ou ainda por modulação do tônus do sistema endocanabinoide, por redução da degradação dos canabinoides naturais, como a anadamida (Castillo *et al.*, 2013; Amtmann *et al.*, 2004).

Na ELA, as atividades antioxidante, anti-inflamatória e neuroprotetora dos canabinoides são esperadas para melhorarem os sintomas da doença. Os primeiros levantamentos da avaliação em pacientes com ELA estão associados com melhorias no apetite, depressão, dor, espasticidade e salivação (Amtmann *et al.*, 2004).

5 NOVOS ALVOS FARMACOLÓGICOS PARA A DOENÇA DE HUNTINGTON

5.1 Vias apoptóticas

A apoptose é um tipo de morte celular que ocorre de forma organizada e controlada. Esse processo de morte celular programada tem papel fundamental no desenvolvimento e manutenção dos organismos. Além disso, está envolvida na formação de tecidos, no desenvolvimento do sistema imune e na manutenção da homeostase uma vez que permite a eliminação de células e tecidos lesados (Kerr *et al.*, 1972). As células que entram em apoptose, inicialmente, sofrem retração e a membrana celular envolve partes do citoplasma formando vesículas chamadas corpos apoptóticos. Ao final, os fragmentos das células são removidos por fagócitos sem haver perturbação das células adjacentes (Wyllie *et al.*, 1980; Savill *et al.*, 2000).

As alterações morfológicas observadas na apoptose são consequência de uma cascata de eventos moleculares e bioquímicos específicos e geneticamente regulados (Grivicich *et al.*, 2007). Durante a apoptose observa-se, também, condensação e fragmentação do núcleo (Robertson *et al.*, 1978; Wyllie *et al.*, 1980). Organelas como o complexo de Golgi, o retículo endoplasmático e as mitocôndrias são fragmentadas (Frank *et al.*, 2001; Lane *et al.*, 2002). A fragmentação atinge não apenas estruturas, mas moléculas como o DNA e proteínas durante a apoptose é realizada, principalmente, por caspases (Nicholson, 1999, Creagh *et al.*, 2003).

A apoptose desempenha um importante papel na homeostase dos diferentes tecidos e o descontrole deste processo está associado a várias doenças, incluindo neoplasias, doenças autoimunes e neurodegenerativas. O processo apoptótico pode ser disparado por uma variedade de estímulos que promovem a ativação de proteases, denominadas caspases. Em células de mamíferos, a apoptose ocorre preferencialmente por duas vias: extrínseca e intrínseca (mitocondrial). Na via extrínseca há uma sinalização entre o meio extra e intracelular através dos receptores da superfície celular, como o Fas que recebe a ligação de moléculas ligantes (Fas L) produzidos por células do sistema imune. Ocorre também pela ativação da super família dos receptores do fator de necrose tumoral (TNF R1, TNF R2) e dos

receptores do ligante indutor da apoptose relacionado ao TNF (TRAIL R1, TRAIL R2) por seus ligantes (TNF alfa, TRAIL). Após a ligação esses receptores trimerizam e a sua porção citoplasmática se ligam a uma proteína adaptada chamada TRADD (TNF receptor apoptotic death domain) para o TNF alfa ou FADD (Fas-associated death domain) para o Fas (Loro *et al.*, 2005). Após esta sinalização ocorre a ativação de enzimas intracelulares, como as caspases desencadeantes (caspase 8 e 10), que encontravam-se inativas. Estas enzimas irão ativar as caspases executoras (caspase 3, 6 e 7) que irão destruir estruturas celulares culminando com a morte da célula. Todos os eventos bioquímicos ocorrem de forma dinâmica e simultânea (Hajra *et al.*, 2004). (Figura 2).

Na via intrínseca da apoptose, uma organela de grande importância, a mitocôndria, que após recebidos os sinais de morte, aumenta a permeabilidade ao citocromo C por mecanismos ainda desconhecidos (Saraste *et al.*, 2000). Este fator localiza-se no espaço e liga-se ao Apaf-1 que ativa as caspases desencadeantes (caspase 9) (Gren *et al.*, 1998). Outro mecanismo via mitocôndria se dá através da ativação do fator indutor de apoptose (AIF) (Joza, 2001). Este fator localiza-se no espaço entre a membrana interna e externa da mitocôndria, sendo liberado dessa organela após estímulo de morte celular. Ele age independente das caspases, pois se desloca a partir da mitocôndria, passa pelo citoplasma e alcança o núcleo, onde interage com o DNA, causando a condensação e a fragmentação deste a partir da ativação das endonucleases (Geske *et al.*, 2001).

A morte neuronal na DH está associada particularmente com a iniciação da via apoptótica mitocondrial intrínseca (WHO, 2007). Os marcadores para a morte celular via apoptose são ativados nos neurônios do estriado dos pacientes e modelos animais (Kumar *et al.*, 2010). Enquanto a ativação das caspases 3 e 9 e a liberação do Citocromo C da mitocôndria para o citosol são observadas em cérebros de pacientes e animais com a doença (Ona *et al.*, 1999).

Chen *et al.* (2000), em seus estudos, mostraram que o antibiótico minociclina, aprovado para uso clínico como antibiótico desde a década de 1970, apresenta importante papel na atividade neuroprotetora, inibindo as caspases. Além disso, este fármaco apresenta boa biodisponibilidade oral, tolerabilidade e atravessa facilmente a barreira hematoencefálica.

Além disso, este fármaco atenua a perda de células dopaminérgicas e prolonga a sobrevivência de camundongos tratados. Apesar dos resultados promissores, o uso deste

fármaco apresentou limitações em relação ao uso, por apresentar toxicidade impedido sua utilização imediata nos estudos em humanos (WHO, 2007; Chen, M. *et al*, 2000).

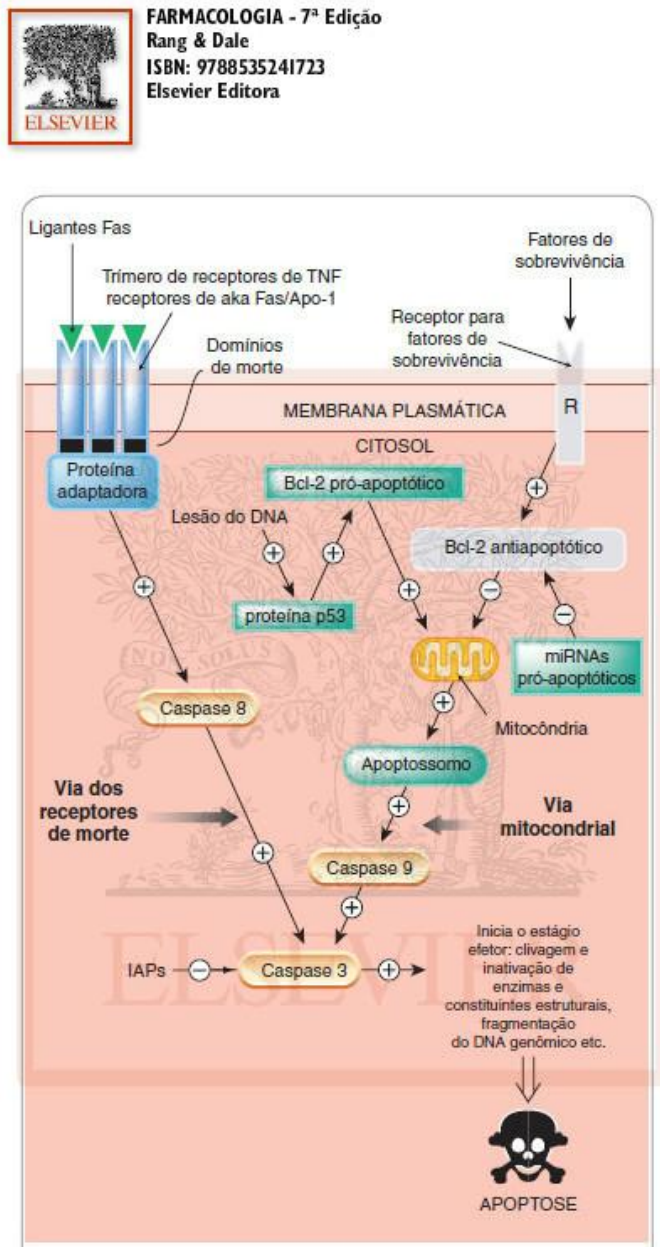


Figura 2: Diagrama simplificado das duas principais vias de sinalização na apoptose. (Rang & Dale, 2011).

5.2 Estresse oxidativo

O estresse oxidativo é caracterizado por um desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio (ROS) e os sistemas antioxidantes (Tunez *et al.*, 2011). Um conjunto crescente de evidências sugerem que a DH pode apresentar componentes de radicais livres e induzir lesão por estresse oxidativo (Feigin *et al.*, 2002). Chen *et al* (2014) descreveram em seus estudos uma correlação entre os produtos da peroxidação lipídica no plasma e gravidade em pacientes com a doença e propuseram como um potencial marcador para avaliar a eficácia do tratamento.

O dimetil fumarato (DMF) é um membro essencial da família ácido éster fumárico (FAE) que pode ativar a transcrição do fator nuclear, que desempenha um papel importante nas vias de proteção para os tecidos, através de respostas antioxidantes e citoprotetoras (Lee *et al*, 2012; Itoh *et al*, 1999).

Jin e colaboradores (2013) mostraram em seus estudos que a huntingtina mutante (mHtt) interrompe a sinalização do fator de transcrição nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2), contribuindo na deficiência da ação das mitocôndrias, aumentando a susceptibilidade do estresse oxidativo nas células do estriado.

Segundo estudos de Piantadosi e colaboradores, a ativação da sinalização de Nrf2 regula a biogênese mitocondrial em cérebro de ratos, cardiomiócitos de camundongos.

A sinalização e expressão de Nrf2 encontram-se alteradas em várias doenças neurodegenerativas e modelos animais (Ellrichmann *et al*, 2011). No entanto, ainda não é conhecido como o mHtt afeta a sinalização de Nrf2 (Jin *et al*, 2013).

5.3 Excitotoxicidade

A excitotoxicidade é um importante processo biológico caracterizado pela intensa estimulação neuronal por glutamato. Esta estimulação exagerada por glutamato induz um excessivo influxo de cálcio, desencadeando a ativação de diversas enzimas, e com

consequência, morte celular. O processo de excitotoxicidade está associado a algumas doenças como em acidente vascular cerebral, lesão cerebral traumática, esclerose múltipla, doença de Alzheimer, epilepsia, doença de Parkinson, DH (Gasparini *et al.*, 2013; Miller *et al.*, 2010).

O glutamato é o neurotransmissor excitatório mais abundante no cérebro (Gasparini *et al.*, 2013) e está envolvido em uma variedade de processos fisiológicos, tais como aprendizado, memória e formação de redes neuronais durante o desenvolvimento (Ozawa *et al.*, 1998). Os efeitos do glutamato são mediados por receptores ionotrópicos ou metabotrópicos tais como cainato, ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propriônico (AMPA) e N-metil D-Aspartato (NMDA). O processo excitatório é resultante de uma cascata de eventos que levam a morte neuronal e é desencadeada pela excessiva ativação dos receptores de NMDA, em sua grande maioria, ou AMPA (Colton *et al.*, 2010).

A excitotoxicidade se inicia quando o glutamato é liberado pelos neurônios pré-sinápticos que ativam os receptores ionotrópicos de glutamato presentes no neurônio pós-sinápticos, resultando no influxo de íons Na^+ e Ca^+ na célula. Com isso, ocorre a despolarização da membrana, abertura de canais de cálcio voltagem-dependentes, liberando assim, mais glutamato e diminuindo ou inibindo a recaptção de glutamato por seu transportador. A liberação excessiva do neurotransmissor glutamatérgico leva a ativação dos receptores metabotrópicos (mGluR1-7) que também aumentam o cálcio intracelular, via retículo endoplasmático. A entrada de íons sódio contribui ainda mais para o influxo de cálcio ao estimular a bomba sódio-cálcio. O influxo excessivo de cálcio gera uma disfunção mitocondrial e subsequente formação de radicais livres. Todos estes mecanismos culminam na morte neuronal (Colton *et al.*, 2010). (Figura 3)

Diferentes estudos demonstram que na DH ocorre um aumento de glutamato na região estriatal devido à redução da recaptção de glutamato pela glia, especificamente pela baixa regulação do transportador de glutamato do tipo 1 GLT1, presente principalmente em astrócitos (Arzberger *et al.*, 1997; Hassel *et al.*, 2008). Além disso, ocorre diminuição da expressão de glutamina sintetase, enzima que converte glutamato em glutamina na glia (Liévens *et al.*, 2001) e alteração da expressão de receptores de glutamato (Cha *et al.*, 1999).

Segundo Guidetti *et al* (2006) os níveis neuroprotetores do ácido quinurênico (KYNA) em modelos de camundongos transgênicos para a DH encontram-se inalterados e a elevação significativa nas concentrações neurotóxicas da via quinurenina resultam em uma mudança no metabolismo pela deficiência de KYNA e, com isso, a possibilidade do seu aumento seria benéfico através de um aspecto terapêutico. No entanto, a sua administração sistêmica não apresenta uma boa abordagem terapêutica devido em altas doses, a solubilidade é um fator limitante, devido atravessar muito pouco a barreira hematoencefálica, sofrendo uma depuração rápida a partir do cérebro e do organismo (Zadori *et al.*, 2011; Fukui *et al.*, 1991; Bahn *et al.*, 2005).

Zádori *et al* (2011) realizaram estudos com a utilização de um novo análogo da KYNA, o N-(2-N,N dimetilaminoetil)- 4-oxo-1H-quinolina-2-carboxamida hidrocloreto, em camundongos, em que este apresentou efeitos significativos, como prolongamento da sobrevivência e melhora da locomoção dos camundongos transgênicos, além de impedir a atrofia dos neurônios do estriado, superando as desvantagens abordadas anteriormente.

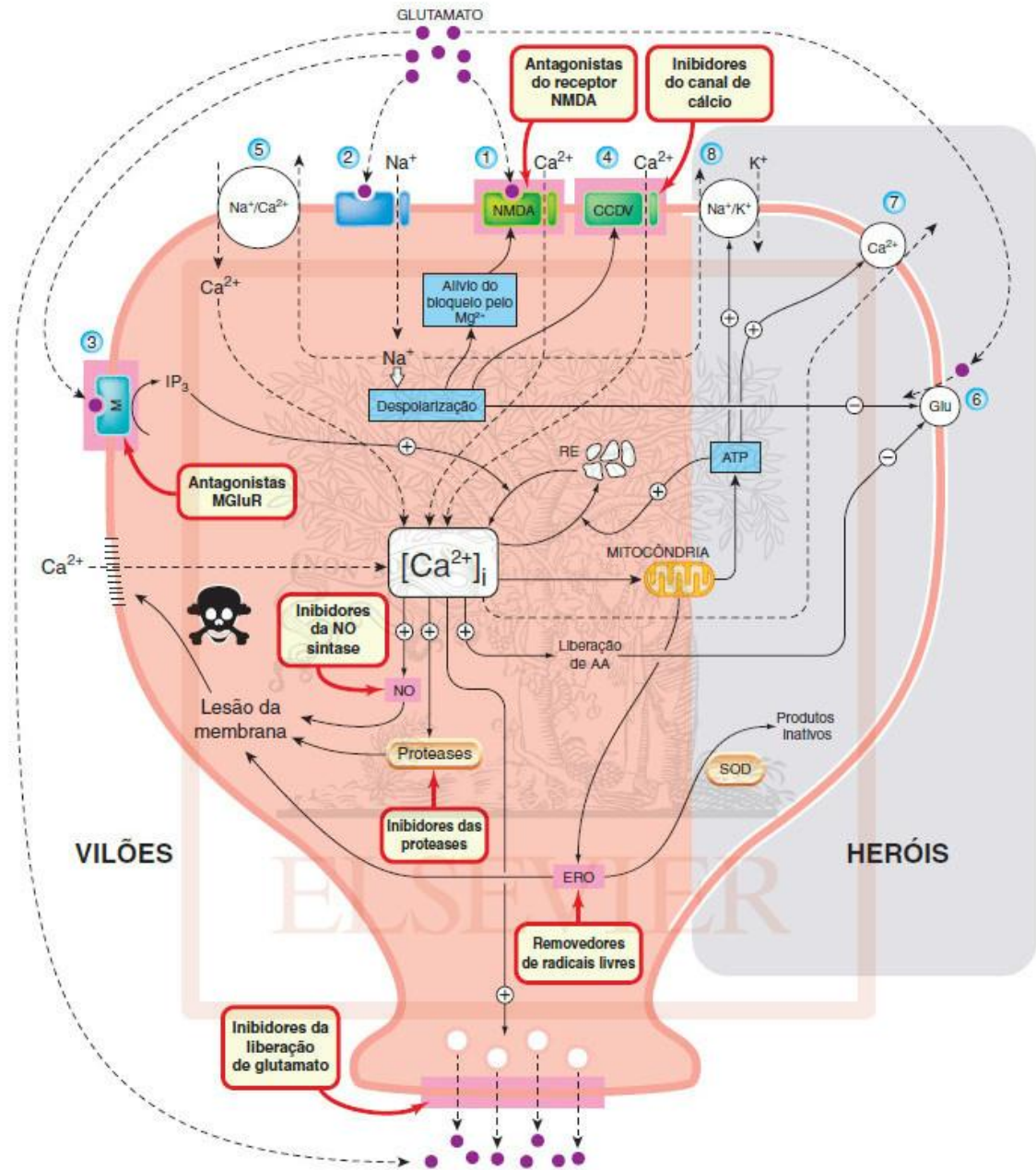


Figura 3: Mecanismos da excitotoxicidade. (Rang & Dale, 2011).

6 CONCLUSÃO

As Doenças Neurodegenerativas são multifatoriais e apesar dos recentes progressos, ainda é necessário abordar as necessidades básicas, como a definição da doença, os biomarcadores e os mecanismos moleculares da neurodegeneração e da neuroproteção.

REFERÊNCIAS

- Alexander, G.E. *et al.* Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci*, 1986; v.9,357-81.
- Amtmann, D. *et al.* Survey of cannabis use in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Hosp Palliat Care*, v.21, n.2, pp.95–104, 2004.
- Andersen, P.M. Amyotrophic lateral sclerosis associated with mutations in the CuZn superoxide dismutase gene. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 6(1), 37-46, 2006.
- Andrew, S.E. *et al.* The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease. *Nature Genet.* 1993(4):398-403.
- Andrus, P.K. *et al.* Protein oxidative damage in a transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurochem*, v.71, n.5, p.2041-48, 1998.
- Arzberger, T. *et al.* Changes of NMDA receptor subunit (NR1, NR2B) and glutamate transporter (GLT1) mRNA expression in Huntington's disease: an in situ hybridization study. *J Neuropathol Exp Neurol*, v.56, n.4, p. 440-54, 1997.
- Azambuja, M.J. Contribuição ao estudo da linguagem em indivíduos com doença de Huntington [online]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2006. Dissertação de Mestrado em Fisiopatologia Experimental. [acesso em 2015-05-05]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5160/tde-25052006-091804/>.
- Bacman, S.R. *et al.* BRADLEY, W.G.; MORAES, C.T. Mitochondrial involvement in amyotrophic lateral sclerosis: trigger or target? *Molecular Neurobiology*, v.33, n.2, p. 113-131, 2006.
- Bahn, A. *et al.* Murine renal organic anion transporters mOAT1 and mOAT3 facilitate the transport of neuroactive tryptophan metabolites. *The American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, v.289, pp.C1075–C1084, 2005.
- Bastos, A.F. *et al.* Amyotrophic lateral sclerosis: one or multiple causes?. *Neurol Int.*, v.3, p.12-15, 2011.

Beal, M.F. *et al.* Increased 3-nitrotyrosine in both sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.*, v.42, n.4, p. 644-654, 1994.

Beckman, J.S. *et al.* Superoxide dismutase and the death of motoneurons in ALS. *Trends Neurosci.*, v.24, n.11, p.S15-20, 2001.

Bensimon, G. *et al.* A controlled trial of Riluzole in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *N Engl J Med*,v.330, n.9, p.585-591, 1994.

Bilney, B. *et al.* Effectiveness of physiotherapy, occupational therapy, and speech pathology for people with Huntington's disease: A systematic review. *Neurorehabil Neural Repair.*, v.17, n.1, p.12-24, 2003.

Boillée, S. *et al.* Onset and progression in inherited ALS determined by motor neurons and microglia. *Science*, v. 312, p.1389–1392, 2006.

Bondareff, W. *et al.* Comparison of sertraline and nortriptyline in the treatment of major depressive disorder in late life. *Am J Psychiatry.*, v.157n.5, p.729-36, 2000.

Boxer, A.L. *et al.* Frontotemporal degeneration, the next therapeutic frontier: molecules and animal models for frontotemporal degeneration drug development. *Alzheimers Dement.*,v.9, p.176–188, 2013.

Brooks, B.R. *et al.* El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. World Federation of Neurology Research Group on Motor Neuron Diseases. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord.*, v.1, n.5, p.293,2000.

Brown, M.S. *et al.* Clinical and research advances in Huntington's disease. *Can J Neurol Sci.*, v.30, n.1, p.45-52,2003.

Bruijn, L.I. *et al.* Unraveling the mechanisms involved in motor neuron degeneration in ALS. *Annu Rev Neurosci.*, v.27, p.723-49, 2004.

Brunnauer A; *et al.* Neuroleptics and cognition, *Psychiatr Pract.*, v.30, n.2, p.106-9,2003

Bruyn, G.W. Huntington's chorea: historical, clinical and laboratory synopsis. In: Vinken PJ, Bruyn GW. *Extrapyramidal Disorders*. Amsterdam: North Holland Publishing Company, 1968. p. 298-378. (Handbook of Clinical Neurology, v.49).

Carvalho *et al.* Eletrodiagnostic criteria for diagnosis of ALS. Review. *Clinical Neurophysiology.*, v. 119, p.497-503, 2008.

Cha, J.H. *et al.* Altered neurotransmitter receptor expression in transgenic mouse models of Huntington's disease. *Philosophical Transactions B*, v.354, n.1386, p.981-989, 1999.

Chen, M. *et al.* Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington disease. *Nature Medicine*, v.6, n.7, p.797-801, 2000.

Chou, S.M. *et al.* Colocalization of NOS and SOD1 in neurofilament accumulation within motor neurons of amyotrophic lateral sclerosis: an immunohistochemical study. *J. Chem. Neuroanat.*, v.10, n3-4, p.249-58, 1996.

Castillo, K. *et al.* Trehalose delays the progression of amyotrophic lateral sclerosis by enhancing autophagy in motoneurons. *Autophagy*, v. 9, n. 9, p. 1308-1320, 2013.

Cleveland, D.W. *et al.* Oxidation versus aggregation- how do SOD1 mutants cause ALS. *Nat. Med.*, v.6, n.12, p.1320-21, 2000.

Colton C.K. *et al.* Identification of translational activators of glial glutamate transporter EAAT2 through cell-based high-throughput screening: An approach to prevent excitotoxicity. *J Biomol Screen.*, v.15, n.6, p.653-662, 2010.

Corcia *et al.* Molecular imaging of microglial activation in amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One*. v.7, n.12, p.e52941, 2012.

Cozzolino, M. *et al.* Amyotrophic lateral sclerosis: from current developments in the laboratory to clinical implications. *Antioxid. Redox Signal.*, v.10, n.3, p.405-43, 2008.

Creagh, E.M. *et al.* Caspase-activation pathways in apoptosis and immunity. *Immunol Rev.*, v.193, p 10-21, 2003.

Crow, J.P. *et al.* Decreased zinc affinity of amyotrophic lateral sclerosis-associated superoxide dismutase mutants leads to enhanced catalysis of tyrosine nitration by peroxynitrite. *J. Neurochem.*, v.69, n.5, p.1936-44, 1997.

Culotta, V.C., *et al.* The copper chaperone for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.*, v.272, n.38, p 23469-72, 1997.

Cumming, J.L. Frontal-Subcortical circuits and human behavior. *Arch Neurol.*, v.50, p.873-80, 1993.

Da Silva *et al.* Fatores Neurotróficos: estrutura, funções e aplicações clínicas. *Atual. Neuroc.*, v.1, p.1-19, 1995.

Dietrich-Neto F. *et al.* Amyotrophic lateral sclerosis in Brazil. *Arq Neuropsiquiatr.*, v.58, n.3-A, p. 607-615, 2000.

Doraiswamy P.M *et al.* Does antidepressant therapy improve cognition in elderly depressed patients? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*, v.58A, n.12, p.1137-44, 2003.

Ellrichmann, G. *et al.* Efficacy of fumaric acid esters in the R6/2 and YAC128 models of Huntington's disease. *PLoS One*, v.6, p. e161-72, 2011.

Feigin, A *et al.* Recent advances in Huntington's disease: implications for experimental therapeutics. *Curr Opin Neurol*, v.15, pp.483-489, 2002.

Ferrante, R.J. *et al.* Evidence of increased oxidative damage in both sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem.*, v.69, n.5, p.2064-74, 1997.

Field, L.S. *et al.* Factors controlling the uptake of yeast copper/zinc superoxide dismutase into mitochondria. *J. Biol. Chem.*, v. 278, n.30, p.28052-9, 2003.

Folstein, S. *et al.* The diagnosis of Huntington's disease. *Neurology*. v.36, p.1279-83, 1986.

Frank, S. *et al.* The role of dynamin-related protein 1, a mediator of mitochondrial fission, in apoptosis. *Dev Cell*, v.1, n.4, p.515-525, 2001.

Fridovich, I. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, v.893, p.13-18, 1999.

Fukui, S. *et al.* Blood-brain barrier transport of kynurenines: implications for brain synthesis and metabolism. *J Neurochem*, v.56, pp.2007–2017, 1991

Furukawa, Y. *et al.* Oxygen-induced maturation of SOD1: a key role for disulfide formation by the copper chaperone CCS. *EMBO J.*, v.23, n.14, p.2872-81, 2004.

Furukawa, Y. *et al.* Posttranslational modifications in Cu, Zn-superoxide dismutase and mutations associated with amyotrophic lateral sclerosis. *Antioxid. Redox Signal.*, v.8, n.5-6, p.847-67, 2006.

Gasparini, C.F. *et al.* The biology of the glutamatergic system and potential role in migraine. *Int J Biomed Sci.*, v.9, n. 1, p. 1-8, 2013.

Geske, F.J. *et al.* The biology of apoptosis. *Hum Pathol*, v.32, p.1029-1038, 2001.

Gilliam TC, *et al.* Localization of the Huntington's disease gene to a small segment of chromosome 4 flanked by D4S10 and the telomere. *Cell.* v.50, p.565-71, 1987.

Gordon, P. H. Amyotrophic lateral sclerosis: pathophysiology, diagnosis and management. *CNS Drugs*, v.25, n.1, p. 1–15, 2011.

Green, D.R. *et al.* Mitochondria and apoptosis. *Science*, v.281, p.1309-1312, 1998.

Grivicich, I. *et al.* Hsp70 response to 5-fluorouracil treatment in human colon cancer cell lines. *Int J Colorectal Dis.*, v.22, n.10, p.1201-1208, 2007.

Guzman, A. *et al.* Common molecular signature in SOD1 for both sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, v.104, n.30, p.12524-29, 2007.

Guidetti P. *et al.* Elevated brain 3-hydroxykynurenine and quinolinate levels in Huntington disease mice. *Neurobiol Dis*, v.23, n.6, pp.190-197, 2006.

Gurney, M.E. *et al.* Motor neuron degeneration in mice that express a human Cu, Zn superoxide dismutase mutation. *Science.*, v. 264, n.5166, p.1772-75, 1994.

Haddad MS. Doença de Huntington: aspectos clínicos em 81 pacientes [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 1995.

Haddad, M.S *et al.* Huntington's Disease. In: Miguel EC, Rauch SL, Leckman JF. *The Psychiatric Clinics of North America*. Philadelphia: WB Saunders Company;v.20, n.4, p.791-807., 1997.

Haidet-Phillips, A.M. *et al.* Astrocytes from familial and sporadic ALS patients are toxic to motor neurons. *Nat. Biotechnol.*, v.29, p.824–828, 2011.

Hajra K.M. *et al.* Apoptosome dysfunction on in human cancer. *Apoptosis.*, v. 9, p.691-704, 2004.

Halliwell, B. *et al.* *Free Radical in Biology and Medicine*. Quarta Edição, Nova Iorque, Oxford University Press Inc., 2007.

Harper PS, editor. Major problems in Neurology: Huntington's disease. 2a ed. London: W.B. Saunders Company Ltd; 1996.

Hassel, B. *et al.* Glutamate uptake is reduced in prefrontal cortex in Huntington's disease. *Neurochem Res.*, v.33, n.2, p.232-7.

Hayden, M.R. Huntington's chorea. Berlin: Springer-Verlag; 1981.

Henkel, J.S. *et al.* Microglia in ALS: the good, the bad, and the resting. *J Neuroimmune Pharmacol.*, v.4, p.389–398, 2009.

Higgins, C.M.J. *et al.* Mutant Cu, Zn superoxide dismutase that causes amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is in mitochondria in the central nervous system. *Soc. Neurosci. Abstr.*, v.31, p.580–585, 2001.

Holzbaur E.L.F. *et al.* Myostatin inhibition slows muscle atrophy in rodent models of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis.*, v.23, p.697-707, 2006.

Hoogveen A.T. *et al.* Characterization and localization of the Huntington disease gene product. *Hum Mol Genet.*, v.2, p.2069-73, 1993.

Huntington G. On Chorea. *Medical and Surgical Reporter*. 1872;26(15):317-21.

Ilieva, H. *et al.* Non-cell autonomous toxicity in neurodegenerative disorders: ALS and beyond. *J. Cell Biol.*, v.187, n.6, p.761-72, 2009.

Iñarrea, P. *et al.* Redox activation of mitochondrial intermembrane space Cu, Zn-superoxide dismutase. *Biochem. J.*, v.387, n.Pt 1, p.203-9, 2005.

Itoh, K. *et al.* Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain. *Genes Dev.*, v.13, pp. 76–86, 1999.

Jin, Y. N. *et al.* Impaired mitochondrial dynamics and Nrf2 signaling contribute to compromised responses to oxidative stress in striatal cells expressing full-length mutant huntingtin. *PLoS ONE*, v.8, n.3 2013.

Johnston, J.A. *et al.* Formation of high molecular weight complexes of mutant Cu, Zn-superoxide dismutase in a mouse model for familial amyotrophic lateral sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, v. 97, n.23, p.12571-76, 2000.

Joza, N. Essential role of the mitochondria apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature*, v.410, p.549-554, 2001.

Kandel, E. *et al.* Principals of Neural Science. Norwall ed. Appliton & Lange; 1991.

Karesek, M. *et al.* Melatonin in humans. *J Physiol Pharmacol.*, v.57, p.19-39, 2006.

Kawamata, H. *et al.* Mitochondrial dysfunction and intracellular calcium dysregulation in ALS. *Mech Ageing Dev.*, v.131, n.7-8, pp. 517–526, 2010.

Keefe, R.S. *et al.* Comparative effect of atypical and conventional antipsychotic drugs on neurocognition in first-episode psychosis: a randomized, double-blind trial of olanzapine versus low doses of haloperidol. *Am J Psychiatry.*, v.161, n.6, p.985-95, 2004.

Kent, A. Huntington's disease. *Nurs Stand.*, v.21, pp.45-51, 2004.

Kerr, J.F. *et al.* Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissues kinetics. *Br J Cancer*, v.26, n.4, 239-257, 1972.

Kiernan, *et al.* Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Lancet.*, v.377, p.942-55, 2011.

Kumar, P. *et al.* Huntington's disease: pathogenesis to animal models. *Pharmacol Rep.*, v.62, n.1, pp.1–14, 2010.

Lane, J.D. *et al.* Caspase-mediated cleavage of the stacking protein GRASP65 is required for Golgi fragmentation during apoptosis. *J Cell Biol.*, v.156, n.3, p.495-509, 2002.

Lanius, R.A. *et al.* Increased [35S] glutathione binding sites in spinal cords from patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosci. Lett.*, v.163, n.1, p.89-92, 1993.

Lasiene J. *et al.* Glial cells in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Res Int.*, v.2011, p.718987, 2011.

Lee, D.H. *et al.* Mechanisms of oxidative damage in multiple sclerosis and neurodegenerative diseases: therapeutic modulation via fumaric acid esters. *Int J Mol Sci.*, v.13, n.9, pp.11783–11803, 2012.

Le'ón, J. *et al.* Melatonin mitigates mitochondrial malfunction. *J Pineal Res.*, v.38, n.1, p. 1–9, 2005.

Lerner, A.B. *et al.* Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J. Am. Chem. Soc.*, v.80, p.2587, 1958.

Liévens, J.C. *et al.* Impaired glutamate uptake in the R6 Huntington's disease transgenic mice. *Neurobiol Dis.* v.8, n.5, p.807-21, 2001.

Lima, K.D.A. Modulação da interação neutrófilo endotélio in vitro por melatonina: ação sobre as células endoteliais. 2011. Dissertação (Mestrado em Fisiologia). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41135>>.

Loro, L.L. *et al.* Apoptosis in normal and disease oral tissues. *Oral Dis.*, v.11, p.274-287, 2005.

Macdonald, M.E. *et al.* A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell*, v.72, p.971–983, 1993.

McCluskey *et al.* Familial amyotrophic lateral sclerosis. *UptoDate*. Last updated: Dez 18, 2012.

McCord, J.M. *et al.* Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, v.244, n.22, p.6049-55, 1969.

Medinas, D.B. Atividade peroxidásica da enzima superóxido dismutase 1 humana: produção do radical carbonato, dimerização covalente da enzima e implicações para a esclerose lateral amiotrófica. 2010. Tese (Doutorado em Bioquímica)- Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/46/46131/tde-26042010-102014/>>. Acesso em: 2015-05-12.

Miller, B. R. *et al.* Corticostriatal circuit dysfunction in Huntington's disease: interserction of glutamate, dopamine and calcium. *Future Neurol.*, v.5, p.735, 2010.

Millul A., *et al.* Survival of patients with amyotrophic lateral sclerosis in a population-based registry. *Neuroepidemiology*. v.25, p.114-119, 2005.

Miquel, E. *et al.* Neuroprotective effects of the mitochondria-targeted antioxidant MitoQ in a model of inherited amyotrophic lateral sclerosis. *Free Radic Biol Med.*, v.70, p.204-213, 2014.

Morimoto, N. *et al.* "Increased autophagy in transgenic mice with a G93A mutant SOD1 gene. *Brain Res.*, v.1167, n.1, p. 112–117, 2007.

Morris M. Dementia and Cognitive Changes in Huntington's Disease. *Adv Neurol.*, v.65, p.187-200, 1995.

Myers, RH. Huntington's disease genetics. *NeuroRx.*, v.1, p.255–62, 2004.

National Institute of Neurological Disorders and Stroke. *Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) Fact Sheet*. 2013. Disponível em: <<http://www.ninds.nih.gov/disorders/amyotrophiclateralsclerosis/ALS.htm>>. Acesso em 07 fev 2015.

Nicholson, D.W. Caspase structure, proteolytic substrates, and function during apoptotic cell death. *Cell Death Differ*, v.6, n.11, p.1028-1042, 1999.

Oliveira *et al.* Esclerose Lateral Amiotrófica: sua manifestação no Brasil. *Revista Neurociências*. v.14, n.Supl 2, 2006.

Okado-Matsumoto, A. *et al.* Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu, Zn-SOD in mitochondria. *J. Biol. Chem.* v.276, n.42, p.38388-93, 2001.

Ona, V. O. *et al.* Inhibition of caspase-1 slows disease progression in a mouse model of Huntington's disease. *Nature*, v.399, n.6733, p.263–267, 1999.

Ozawa, S. *et al.* Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Prog Neurobiol.*, v.54, n.5, p.581-618, 1998.

Petrovic, N. *et al.* Identification of an Apo-Superoxide Dismutase (Cu, ZN) pool in human lymphoblasts. *J. Biol. Chem.*, v.271, n.45, p.28331-34, 1996.

Piantadosi, C.A. *et al.* Heme oxygenase-1 regulates cardiac mitochondrial biogenesis via Nrf2-mediated transcriptional control of nuclear respiratory factor-1. *Circ Res.*, v.103, p.1232–1240, 2008.

Quadros, A.A.J., *et al.* www.abrela.or.br

Rami, A. Review: autophagy in neurodegeneration: firefighter and/or incendiary? *Neuropathol Appl Neurobiol.*, v.35, n.5, p. 449-61, 2009.

Reaume, A.G. *et al.* Motor neurons in Cu/Zn superoxide dismutase-deficient mice develop normally but exhibit enhanced cell death after axonal injury. *Nat. Genet.*, v.13, n.1, p.43-47, 1996.

Richardson *et al.* Neurotrophic factors in regeneration. *Curr. Op. Neurob.*, v.1, p.401-406, 1991.

Richfield EK, *et al.* Neurological Syndrome Following Bilateral Damage to the Head of Caudate Nuclei. *Ann Neurol.*, v.22, p.768-71, 1987.

Robertson, A.M. *et al.* Morphological aspects of glucocorticoid-induced cell death in human lymphoblastoid cells. *J Pathol.*, v.126, n.3, p.181-187, 1978.

Roe, J.A. *et al.* In vivo peroxidative activity of FALS-mutant human CuZnSODs expressed in yeast. *Free Radic. Biol. Med.*, v.32,n.2, p.169-74, 2002.

Ross, C. *et al.* Huntington's disease: From molecular pathogenesis to clinical treatment. *Lancet Neurol.*, v.10, n.1, pp.83-98, 2011.

Rothstein, J.D. Current hypotheses for the underlying biology of amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.*, v.65, n.Supp 1, p.S3-9, 2009.

Rotta, F.T. O uso do riluzol na Esclerose Lateral Amiotrófica. *IV: 1º Encontro de Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) na cidade de Ribeirão Preto.* 2009.

Sánchez-Pernaute, R. *et al.* Bradykinesia in early Huntington's disease. *Neurology.*, v.54, p.119-25, 2000.

Saraste, A. *et al.* Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. *Cardiv Res.*, v.45, p.528-537, 2000.

Savill, J. *et al.* Corpse clearance defines the meaning of cell death. *Nature*, v.407, n.6805, p.784-788, 2000.

Seelaar *et al.* Clinical, genetic and pathological heterogeneity of frontotemporal dementia: a review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.*, v.82, p.476-486, 2011.

Shaw, P.J. *et al.* Oxidative damage to protein in sporadic motor neuron disease spinal cord. *Ann. Neurol.*, v.38, n.4, p.691-95, 1995.

Siciliano,G. *et al.* Clinical trials for neuroprotection in ALS. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, v.9, n.3, p. 305–313, 2010.

Siepmann M; *et al.* Effects of sertraline on autonomic and cognitive functions in healthy volunteers. *Psychopharmacology.*, v.168, p.293-8, 2003.

Snell RG; *et al.* Relationship between trinucleotide repeat expansion and phenotypic variation in Huntington's disease. *Nature Gen.*, n.4, p.393-7, 1993.

Strange, R.W. *et al.* A fraction of yeast Cu, Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. **J. Mol. Biol.**, v.356, n.5, p.1152-62, 2006.

Sturtz, L.A. *et al.* A fraction of yeast Cu, Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. **J. Biol. Chem.**, v.276, n.41, p.38084-89, 2001.

Taylor, D.M. *et al.* Tryptophan 32 potentiates aggregation and cytotoxicity of a copper/zinc superoxide dismutase mutant associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. **J. Biol. Chem.**, v.282, n.22, p.16329-35, 2007.

The American College of Medical Genetics/American Society of Human genetics Huntington Disease Genetic Testing Working Group. ACMG/ASHG statement; Laboratory guidelines for Huntington's disease genetic testing, **Am J Hum Gen.**, v.62, n.5, p.1243-7 1998.

The Huntington's disease Collaborative Research Group: A novel containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. **Cell.** v.72, p.971-83, 1993.

Tumas V, *et al.* Internal Consistency of a Brazilian Version of the Unified Huntington's disease Rating Scale. **Arq de Neuropsiquiatr.**, v.62, n.4, p.977-82, 2004.

Tunez, I. *et al.* Important role of oxidative stress biomarkers in Huntington's disease. **J Med Chem.**, v.54, n.15, p.5602-06, 2011.

Turner, B.J. *et al.* Transgenics, toxicity and therapeutics in rodent models of mutant SOD1-mediated familial ALS. **Prog Neurobiol.**, v.85, n.1, p.94-134, 2008.

Valentine, J.S., *et al.* Copper-zinc superoxide dismutase and amyotrophic lateral sclerosis. **Annu. Rev. Biochem.**, v.74, p.563-93, 2005.

Vucic *et al.* Advances in treating amyotrophic lateral sclerosis: insights from pathophysiological studies. **Trends Neurosci.**, v.37, n.8, p.433-442, 2014.

Walker, O. Huntington's disease. *Lancet.*, v.369, n.9557, p.218-28, 2007.

Weishaupt, J.H. *et al.* Reduced oxidative damage in ALS by high-dose enteral melatonin treatment. *J Pineal Res.*, v.41, p.313–323, 2006.

Wiedau-Pazos, M. *et al.* Altered reactivity of superoxide dismutase in familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science.*, v.271, n.5248, p.515-518, 1996.

Winterbourn, C.C. *et al.* Thiol oxidase activity of copper, zinc superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.*, v.277, n.3, p.1906-1911, 2002.

Wong, P.C., *et al.* Copper chaperone for superoxide dismutase is essential to activate mammalian Cu;Zn superoxide dismutase. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA.*, v.97, n.6, p.2826-2891, 2000.

World Health Organization. *What are neurological disorders?* 2007a. /Disponível em: <<http://www.who.int/features/qa/55/en/>>. Acesso em: 07 fev 2015.

² _____. *Neurological disorders: public health challenges.* 2006. Disponível em: <http://www.who.int/mental_health/neurology/neurological_disorders_report_web.pdf?ua=>. Acesso em: 07 fev 2015.

³ _____. *Neurological diseases affect millions globally: WHO report.* Geneva: WHO, 2011. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2007/pr04/en/>>. Acesso em: 07 fev 2015.

Worms. The epidemiology of motor neuron diseases: a review of recent studies. *J Neurol Sci.*, v.191, n.1-2, p.3-9, 2001.

Wyllie, A. *et al.* Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol.*, v.68, p. 251-306, 1980.

Yamanaka, K. *et al.* Astrocytes as determinants of disease progression in inherited amyotrophic lateral sclerosis. *Nat. Neurosci.*, v.11, n.3, p.251-253, 2008.


Zadori, D. *et al.* Neuroprotective effects of a novel kynurenic acid analogue in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *J Neural Transm.*, v.118, n.6, p.865–875, 2011.

Zarkovic, K. 4-hydroxynonenal and neurodegenerative diseases. *Mol. Aspects Med.*, v.24, n.4-5, p.293-303, 2003.

Zhang, H. *et al.* Bicarbonate enhances the hydroxylation, nitration, and peroxidation reactions catalyzed by copper, zinc superoxide dismutase. Intermediacy of carbonate anion radical. *J. Biol. Chem.*, v.275, n.19, p.14038-14045, 2000.

Zuardi, M.C. Quantificação da lesão neuronal e mielínica na Esclerose Lateral Amiotrófica através da ressonância magnética [online]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2012. Dissertação de Mestrado em Neurologia. [acesso 2015-05-05]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17140/tde-30082012-083717/>.

ANEXOS



Hindawi Publishing Corporation

Home Journals About Us

BioMed Research International

Impact Factor 2.706

About this Journal Submit a Manuscript Table of Contents

Journal Menu

- About this Journal
- Abstracting and Indexing
- Advance Access
- Aims and Scope
- Annual Issues
- Article Processing Charges
- Articles in Press
- Author Guidelines
- Bibliographic Information
- Citations to this Journal
- Contact Information
- Editorial Board
- Editorial Workflow
- Free eTOC Alerts
- Publication Ethics
- Reviewers Acknowledgment
- Submit a Manuscript
- Subscription Information
- Table of Contents

Open Special Issues

BioMed Research International
Article ID 198612

Review Article

An Overview of Potential Targets for Treating Amyotrophic Lateral Sclerosis and Huntington's Disease

Caroline Zocатели de Paula, Bruno Daniel Correia Gonçalves, and Luciene Bruno Vieira

Laborat3rio de Neurofarmacologia, Departamento de Farmacologia, Instituto de Ci4ncias Biol3gicas (ICB), Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Pampulha, 31270901 Belo Horizonte, MG, Brazil

Received 5 December 2014; Accepted 8 April 2015

Academic Editor: Eduardo Candelario-Jalil

Copyright 2015 Caroline Zocатели de Paula et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

Neurodegenerative diseases affect millions of people worldwide. Progressive damage or loss of neurons, neurodegeneration, has severe consequences on the mental and physical health of a patient. Despite all efforts by scientific community, there is currently no cure or manner to slow degeneration progression. We review some treatments that attempt to prevent the progress of some of major neurodegenerative diseases: Amyotrophic Lateral Sclerosis and Huntington's disease.

- Abstract
- Full-Text PDF
- Full-Text HTML
- Full-Text ePUB
- Linked References
- How to Cite this Article

An overview of potential targets for treating: Amyotrophic Lateral Sclerosis and Huntington's disease.

Caroline Zocatelli de Paula¹ , Bruno Daniel Correia Gonçalves¹ and Luciene Bruno Vieira^{1,a}

¹Laboratório de Neurofarmacologia, Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Pampulha Cep: 31270901 - Belo Horizonte, MG - Brazil

^aCorrespondence should be addressed to Luciene Vieira: lubvieira@ufmg.br

ABSTRACT

Neurodegenerative diseases affect millions of people worldwide. Progressive damage or loss of neurons, neurodegeneration, has severe consequences on the mental and physical health of a patient. Despite all efforts by scientific community, there is currently no cure or manner to slow degeneration progression. We review some treatments that attempt to prevent the progress of some of major neurodegenerative diseases: Amyotrophic Lateral Sclerosis and Huntington's disease.

1. INTRODUCTION

Neurodegenerative diseases are characterized by a slow and progressive loss of neurons in different areas of the central nervous system. Motor neurons are impaired in Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) as well as thorny striatal neurons in Huntington's disease (HD)⁽¹⁾. ALS symptoms include a progressive muscle phenotype of spasticity, hyperreflexia, fasciculations, atrophy and paralysis. The disease is usually lethal within 3-5 years after the diagnosis and in most cases, patients die from respiratory failure⁽¹⁾. The causes of the disease and the mechanisms causing premature death of motor neurons are not clear. In addition, two types of the disorder are recognized, familial ALS (fALS) and the most common, sporadic ALS (sALS)⁽¹⁾.

Currently the only available treatment for ALS is Riluzole, approved for use in 1995. However, Riluzole only slows down the progression of the disease and gives the patient an average of 3 months of extended life span⁽²⁾. The exact mechanism of action of Riluzole is unknown, several papers have demonstrated its inhibition of sodium, calcium, potassium, and glutamate currents⁽³⁾. The co-administration of Riluzole with other potential therapeutic agents is constantly being assessed and usually with no promising positive results^(4,5). Therefore, the safety of the combination of riluzole with a second study drug is unpredictable.

Huntington's disease (HD) is an inherited neurodegenerative disorder, characterized by progressively loss of neurons in the whole brain, notably in the basal ganglia and cerebral cortex, resulting in worsening chorea, cognitive and psychiatric disturbances⁽⁶⁾. In the United States, HD occurs in about 1 in 10,000 people. Currently about 30,000 people in the U.S. have HD and up to 200,000 are at risk⁽⁷⁾. HD is caused by mutant huntingtin (mHtt) protein resulting from an expanded polyglutamine cytosine-adenine-guanine (CAG) repeat sequence in the autosomal dominant gene *huntingtin* (*HTT*, 4p16.3)⁽⁸⁾. Mutant huntingtin protein accumulates and produces transcriptional dysregulation, proteasomal, autophageal, mitochondrial, and metabolic dysfunctions, oxidative stress, apoptosis, neuroinflammation, and consequent neurodegeneration, especially in the striatum^(8,9). Unlike ALS, no major treatment has been developed specifically for Huntington's disease. Some symptomatic treatments are available for some motor or psychiatric features⁽¹⁰⁾.

Since both ALS and HD are neurodegenerative disorders, the neuronal loss is progressive and leads to severe disability and reduced quality of life and life expectancy⁽¹¹⁾. Although multiple factors are involved in the pathogenesis of these neurodegenerative disease, which have heterogeneous etiology and background, the mechanisms underlying neuronal death are similar, enabling development of drugs that target many disorders⁽¹²⁾. Nervous system damage in response to an insult may lead to acute or delayed neuronal death, apoptotic cell death, neuronal degeneration, injury and loss, and gliosis⁽¹¹⁾. Thus, neuroprotection can be an important therapeutic intervention that prevents the death of vulnerable neurons and also retracts progression of the disease.

The aim of this review was to discuss possibilities of multi-modal and neuroprotective therapies for ALS and HD, employing currently available drugs and potential targets that might be exploited in the future.

2. AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS (ALS)

Possibly because the pathogenesis of ALS remains mostly unknown, development of treatments that are effective across the spectrum of sporadic and familial ALS has not been achieved. Considerable evidence supports the involvement of mitochondrial dysfunction and oxidative stress, autophagy, apoptosis, and protein aggregation in the pathogenesis of ALS⁽¹³⁾. Several exciting potential targets for drug intervention to lessen neurodegeneration in ALS are in development^(14,15,16). We described some of the promising candidates for treating ALS.

MITOCHONDRIAL FUNCTION AND OXIDATIVE STRESS PATHWAYS

The involvement of mitochondria in oxidative damage, calcium buffering and signaling of apoptotic pathways puts the organelle in perspective for therapeutic approaches. Questions such as whether mitochondrial dysfunctions are a trigger or a consequence in neurodegenerative disease dynamics are still in debate, and increasing interest and discoveries are in course regarding mitochondrial modulators⁽¹⁷⁾. Studies in ALS patients present strong evidences of mitochondrial dysfunction^(18,19,20). Moreover, mutant SOD1 mouse model for ALS shows morphological alterations in motor neurons and skeletal muscle tissue before onset of neurodegeneration symptoms, and similar abnormalities are found in sporadic ALS patients^(21,22,23). Furthermore mitochondrial alterations are not restricted to SOD1 mutants as demonstrated in TDP-43 mutant models⁽²⁴⁾.

MitoQ is a mitochondrial anti-oxidant that contains the antioxidant Quinone linked to a lipophilic triphenylphosphonium cation. Researchers showed that MitoQ prolonged life span and the pathology of SOD-knockout *Drosophila melanogaster*, the enzyme involved in ALS⁽²⁵⁾. In addition, the compound has been show to exert neuroprotective effects in SODG93A mice, slowing

functional decline, decreasing oxidative damage and disease progression, and increasing survival⁽²⁶⁾. Furthermore, other studies showed that MitoQ pre-incubation prevented the cell death observed in cultures of motor neurons + SOD-mutant astrocytes alone⁽²⁷⁾.

MELATONIN

Melatonin is a natural hormone produced and secreted by the pineal gland. It is currently used to increase sleep efficiency, improve cardiovascular system, and as an anti-aging drug^(28,29). Recent researches in experimental models showed positive effects of melatonin in major neurodegenerative disorders such as ALS, Parkinson's Disease, Alzheimer's Disease and HD⁽³⁰⁾. In ALS, the most promising effects of melatonin are those of blocking apoptotic pathways and reducing oxidative damage. The mechanisms of melatonin anti-apoptotic effects are not completely clear, although the mitochondria has been identified as its target⁽³¹⁾.

Oxidative damage caused by free-radicals is accepted as a common link between neurodegenerative diseases and melatonin acts scavenging these free-radicals showing antioxidant activity⁽³²⁾. Experiments demonstrated attenuation of super-oxide induced cell death and the modulation of glutamate toxicity by melatonin in vitro NSC-34 motor neurons culture⁽³³⁾.

Other recent studies showed an inhibitory activity of melatonin over apoptotic Caspase-1/Cytochrome Caspase-3 apoptotic pathway, with melatonin inhibiting cytochrome C release and preventing cell death in cultured neurons. In ALS SODG93A mice, melatonin inhibited motor neuron death in the ventral horn of spinal cord, delayed disease onset and mortality⁽³⁴⁾. The hormone also inhibited Rip2/caspase-1 pathway. In addition, the work had novel findings in showing an association between disease progression and loss of melatonin and melatonin 1A receptors (MT1) in spinal cord of mice. These latter are interesting since MT1 receptors are linked to other major neurodegenerative diseases such as HD and Alzheimer's Disease ^(35,36,37).

Melatonin clinical trials were so far aimed mostly towards insomnia and sleep disturbances⁽³⁸⁾. However more recently reduced oxidative damage was

reported in patients treated with enteral melatonin at high-doses⁽³³⁾. Melatonin showed well toleration event at high-doses and crosses easily the blood-brain-barrier further supporting its therapeutic potential.

PROTEIN AGGREGATION, ALTERED AUTOPHAGY

One of the consequences of the genetic mutations involved in neurodegenerative diseases is the appearance of misfolded mutant protein aggregates⁽³⁹⁾. These aggregates can be toxic and can affect organelles such as mitochondria by its accumulation. In this way, some studies support that clearance of these aggregates could be a therapeutic intervention. In ALS, a link between the disease and protein aggregation altered autophagy was initially observed on morphological studies of spinal cord tissues of ALS patients and models, showing increased number of autophagosomes^(40,41,42).

In this way, as evidences aroused that impaired autophagy may play a pathogenic role in neurodegeneration, compounds promoting autophagy started to be tested. Progesterone and trehalose, two autophagy stimulators have showed promising results in the SOD model – delayed disease onset and prolonged survival – all related to an induction of the autophagic flux^(43,44).

Rapamycin, an FDA approved drug, that induces autophagy was tested in the SOD1(G93A) model with negative results, enhancing the rate of disease progression and motor neuron death^(45,46). Thus Rapamycin may be, in part, detrimental in ALS due to its immunosuppressive action⁽⁴⁵⁾. However, there are recent data showing that Rapamycin enhances autophagy in immunodeficient mice avoiding the progression of ALS⁽⁴⁷⁾. These authors used a strategy to avoid the immunosuppressive effect of Rapamycin and so observed its action on increasing autophagy. Then in this case Rapamycin slowed down the progression of ALS⁽⁴⁷⁾.

In addition to the previously mentioned effects, the hormone Melatonin has also demonstrated neuroprotective activity through enhanced-autophagy^(48,49). Melatonin protected against apoptosis via a mitochondrial pathway, reducing caspase-3 activity, cytochrome c release, and increasing LC3-II/LC3-I levels, an autophagy marker, as demonstrated by Chen et. al⁽⁴⁸⁾. The granular corneal

dystrophy type 2 hallmark is linked to impaired autophagic degradation of mutant protein deposits⁽⁴⁹⁾. Choi et al. also demonstrated that melatonin activates autophagy via the mammalian target of rapamycin pathway (mTOR). Melatonin have showed positive effects in autophagosome formation and maturation, and its co-treatment with Rapamycin had additive effects in autophagic clearance of mutant protein aggregates, in comparison to either drug alone⁽⁴⁹⁾. Although rapamycin effects of suppression of protective immune responses and enhancement of protective autophagy can cancel each other out in general health improvement ⁽⁴⁵⁾, these findings suggests that more specific targeting of autophagy with drugs that produce less side effects holds potential for halting disease and neurodegeneration. For that matter melatonin treatment can be a more efficient option with less side effects. Moreover could be possible that co-treatment with Melatonin and lower dosages of rapamycin would increase efficacy while maintaining rapamycin-induced immunosuppression controlled.

TARGETING THE ENDOCANNABINOID SYSTEM

The endocannabinoid system is recognized as playing a major role in modulating various processes in the body. Increasing evidences suggest an antioxidant, anti-inflammatory, neuroprotective and other activities such as improving appetite, anxiety and depression related to endocannabinoids and cannabinoid therapies⁽⁵⁰⁾. However, there are still major controversies regarding therapeutical applications of the endocannabinoid system, such as whether therapeutic effects are achieved by direct agonism/antagonism of cannabinoid receptors or by modulating the endocannabinoid system tonus, by reducing degradation of natural cannabinoids such as anandamide^(50,51).

In ALS, the antioxidant, antinflammatory and neuroprotective activities of cannabinoids are expected to improve ALS symptoms. First surveys assessed marihuana usage in ALS patients, and associated it with improvements of appetite, depression, pain, spasticity and drooling⁽⁵²⁾.

In the SOD1(G93A) ALS model, scientists assessed the effects of cannabitol, a non-psychotropic compound of the plant. Positive effects regarding disease

progression and delay of approximately 2 weeks of disease onset were observed, providing evidence of cannabinoid treatment for ALS⁽⁵³⁾. Further evidence was found, showing that cannabidiol, another phytocannabinoid also exerts positive effects of normalizing mitochondrial dynamics associated to caspase 3, DNMT1L, and synaptophysin levels in models⁽⁵⁴⁾. More recently, a combination of phytocannabinoids called Sativex® was tested in SOD1G93A mice with moderately positive results⁽⁵⁵⁾. All of these emerging findings points towards neuroprotective and antiapoptotic activities of the cannabinoids in neurodegenerative processes. Better results are expected by the design of more specific compounds, acting on specific populations of cannabinoid receptors, as suggested by discoveries of specific neuroprotective population of cannabinoid receptors⁽⁵⁶⁾.

3. HUNTINGTON'S DISEASE

A neuropathological hallmark of Huntington's disease is the presence of neuronal nuclear inclusions and cytoplasmic aggregates of misfolded mutant huntingtin protein (mHtt)⁽⁹⁾. The mHtt accumulates and produces transcriptional dysregulation, proteasomal, autophagocytic, mitochondrial, and metabolic dysfunctions, oxidative stress, apoptosis, neuroinflammation, excitotoxicity and consequent neurodegeneration^(8,9). As HD is a genetic disease, affected patients have abnormal huntingtin from the very first moment of the protein's expression, which suggests that neuronal abnormalities might be present since the start. Targeting these pathways might be a clever strategy for treating HD.

APOPTOTIC PATHWAYS

Neuronal cell death in HD is associated with neuronal apoptosis, particularly with the initiation of the intrinsic mitochondrial apoptotic pathway⁽¹²⁾. Markers for apoptotic cell death are activated in striatal neurons from both patients with HD and animal models⁽⁵⁷⁾. Activation of caspases 3 and 9 and release of cytochrome c from the mitochondria into the cytosol is observed both in the brains of patients and animals with HD⁽⁵⁸⁾.

Minocycline is an antibiotic, reported to exert neuroprotective activities through caspase-1, caspase-3, inducible form of nitric oxide synthase and p38

mitogen-activated kinase (MAPK). It has good oral bioavailability, tolerability, and crosses blood-brain barrier easily. In ALS models, minocycline delayed disease onset and extend survival. It also inhibited cytochrome c release, which was demonstrated both in vivo and in isolated mitochondria⁽⁵⁹⁾.

Chen et al. reported that the inhibition of caspase 1 and 3 expression by minocycline delayed mortality in R6/2 mice, a model of HD. In addition, minocycline attenuated dopaminergic cell loss and delayed mortality in MPTP-treated mice. Minocycline was taken to human trials for HD as a promising therapy but failed. Although its promisor results, it has encountered limitations for its use due toxicity in pharmacological dosages⁽⁵⁹⁾. Moreover, the currently available caspase inhibitors are toxic in pharmacological doses, precluding their immediate use in human studies⁽¹²⁾.

OXIDATIVE STRESS

Oxidative stress is characterized by an imbalance between reactive oxygen species (ROS) and antioxidant systems⁽⁶⁰⁾. Interestingly, Chen et al. described a correlation between lipid peroxidation products in plasma and degree of severity in patients with HD⁽⁵⁹⁾. Klepac et al. also reported an occurrence of oxidative stress in HD⁽⁶¹⁾.

Dimethylfumarate (DMF) an essential member of fumaric acid ester (FAE) family, is the active ingredient of BG-12, which has been offered as an effective oral treatment option for patients with relapsing remitting multiple sclerosis (RRMS)⁽⁶²⁾. DMF can activate transcription factor nuclear factor (erythroid-derived 2) Nrf2- dependent transcriptional activity of target genes, shielding neurons and astrocytes against cellular injury and loss⁽⁶³⁾. There is compelling evidence of the disruption of the Nrf2 system in HD and the contribution of Nrf2 activation to ameliorating oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neuronal tissue damage in HD. Jin and colleagues have shown that mHtt disrupts Nrf2 signaling, which contributes to impaired mitochondrial dynamics and may enhance susceptibility to oxidative stress in STHdh (Q111/Q111) cells, striatal cells expressing mHtt⁽⁶⁴⁾. Moreover, DMF treatment leads to an increase in Nrf2 staining in neuronal subpopulations relevant for

motor functions, concomitant with elevated Nrf2 immunoreactivity in R6/2 mice, which mimic many aspects of HD. Additional studies in N171-82Q mice, another transgenic mouse model of HD, showed that 2-Cyano-3,12-Dioxooleana-1,9-Dien-28-Oic acid - ethyl amide CDDO-EA and 2-Cyano-3,12-Dioxooleana-1,9-Dien-28-Oic acid -trifluoroethyl amide CDDO-TFEA upregulate Nrf2/ARE induced genes in the brain and peripheral tissues, reduce oxidative stress, improving motor impairment and increasing longevity⁽⁶⁵⁾.

NEUROPROTECTIVE CELL SIGNALING PATHWAYS

The signaling pathways involved in HD are not yet clearly elucidated⁽⁶⁶⁾. Thus, it is possible that alterations of receptor-mediated signaling pathways could contribute to protection or exacerbation of cell death cascades in the symptomatic and/or presymptomatic phases of HD⁽⁶⁷⁾. Recently, Doria et al. 2015 described the effect of a positive allosteric modulator (PAM) for metabotropic glutamatergic receptor Type 5 (mGluR5), named CDPPB (3-Cyano-N-(1,3-diphenyl-1H-pyrazol-5-yl)benzamide)⁽⁶⁸⁾. This drug was capable of delaying HD-related symptoms *in vitro* experiments⁽⁶⁹⁾ and also *in vivo*⁽⁶⁸⁾. Chronic treatment of BACHD mice (model of HD) with CDPPB 1.5 mg/kg for 18 weeks increased the activation of cell signaling pathways, including increased AKT and ERK1/2 phosphorylation and augmented the BDNF mRNA expression. CDPPB chronic treatment was also able to prevent the neuronal cell loss that takes place in the striatum of BACHD mice and decrease htt aggregate formation⁽⁶⁸⁾. Moreover, CDPPB chronic treatment was efficient to partially ameliorate motor incoordination and to rescue the memory deficit exhibited by BACHD mice. Importantly, no toxic effects or stereotypical behavior was observed upon CDPPB chronic treatment, however the exact CDPPB mechanism of action and more safety tests need to be performed⁽⁶⁸⁾.

EXCITOTOXICITY

Excitotoxicity is known to be an important piece in the development of HD. Thus, antiglutamatergic agents may, therefore, have beneficial neuroprotective effects⁽⁷⁰⁾. One of these agents is tryptophan metabolite kynurenic acid (KYNA), which is an endogenous NMDA receptor antagonist⁽⁷⁰⁾. Although the neuroprotective KYNA shows unaltered levels in mice models, the significant

elevation in the concentrations of neurotoxic kynurenine pathway compounds leads to a shift in the metabolism resulting in relative KYNA deficiency⁽⁷⁰⁾. These findings raise the possibility that increasing KYNA effect would be beneficial from a therapeutic aspect. However, higher doses of KYNA, has low solubility and poor penetration to blood–brain barrier⁽⁷¹⁾.

Memantine is a noncompetitive N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist that stabilizes glutamatergic tone. Memantine can attenuate the excitotoxic mechanism⁽⁷²⁾. One interesting study examined Memantine as a treatment for patients suffering from Huntington disease. The administration of 20 mg of Memantine/daily, significantly improved motor symptoms, improved chorea, but failed to improve patient's cognitive, behavioral, functional, or independence ratings⁽⁷³⁾.

4. CONCLUSION

Neurodegenerative diseases are multifactorial and despite recent progress, basic needs such as the definition of disease biomarkers, and molecular mechanisms of neurodegeneration are still to be addressed. No major treatment has been developed specifically for ALS and HD. Some symptomatic treatments are available for some motor or psychiatric features. In the meantime, the revelation of new mechanisms involved in the disease onset and progression gives opportunity for novel approaches in symptomatic treatment. The development or improvement of disease models is also necessary for better assessment of drugs and pathological mechanisms. Multi-functional and multi-target approaches will probably be needed to restore neuronal health when cell dysfunction is present. We must have in mind that multi-targeted and combined therapies may be an option in that regard.

5. Contributors

All authors exchanged ideas for the Review. CZP reviewed the references and prepared the first draft including the reference list. BDCG and LBV reviewed the first draft and provided comments on the references. LBV prepared the final draft. All authors approved the final manuscript.

Review criteria

Articles were selected based on searches of PubMed using a number of different search terms, such as “Neurodegenerative diseases” “Huntington’s disease”, “Amyotrophic Lateral Sclerosis”, “neuroprotection”, “neurodegeneration”, “pathogenesis”, “mitochondria”, “apoptosis”, “huntingtin”, “autophagy”. Only full-text papers written in English and its references were selected.

7. Conflict of Interests

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

8. Acknowledgments

This work was supported by Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Pró-reitoria de Pesquisa da UFMG (PRPq).

9. REFERENCES

- (1) National institute of neurological disorders and stroke. Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) Fact Sheet. NINDS. 2013.
- (2) Bensimon G, Lacomblez L, V. M. A controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. ALS/Riluzole Study Group. *N Engl J Med.* 1994;330:585-91.
- (3) Bellingham M. A review of the neural mechanisms of action and clinical efficiency of riluzole in treating amyotrophic lateral sclerosis: what have we learned in the last decade? *CNS Neurosci Ther* 2011;17(1):4-31.
- (4) Dupuis L, Dengler R, Heneka MT, Meyer T, Zierz S, Kassubek J, Fischer W, Steiner F, Lindauer E, Otto M, Dreyhaupt J, Grehl T, Hermann A, Winkler AS, Bogdahn U, Benecke R, Schrank B, Wessig C, Grosskreutz J, Ludolph AC; GERP ALS Study Group. A randomized, double blind, placebo-controlled trial of pioglitazone in combination with riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One.* 2012;7(6):e37885. doi: 10.1371/journal.pone.0037885. Epub 2012 Jun 8.

- (5) Aggarwal SP, Zinman L, Simpson E, McKinley J, Jackson KE, Pinto H, Kaufman P, Conwit RA, Schoenfeld D, Shefner J, Cudkovic M; Northeast and Canadian Amyotrophic Lateral Sclerosis consortia. Safety and efficacy of lithium in combination with riluzole for treatment of amyotrophic lateral sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.* 2010 May;9(5):481-8. doi: 10.1016/S1474-4422(10)70068-5. Epub 2010 Apr 1.
- (6) Kent A. Huntington's disease. *Nurs Stand.* 2004;21:45-51.
- (7) Pringsheim T, Wiltshire K, Day L, Dykeman J, Steeves T, N. J. The incidence and prevalence of Huntington's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord.* 2012;27:1083-91.
- (8) Ross C, Tabrizi S. Huntington's disease: From molecular pathogenesis to clinical treatment. *The Lancet Neurology.* 2011;10(1):83-98.
- (9) Difiglia M, Sapp E, Chase KO, Davies SW, Bates GP, Vonsattel JP, et al. Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science.* 1997;277(5334):1990-3.
- (10) Walker O. Huntington's disease. *The Lancet.* 2007;369(9557):218-28.
- (11) Vadja F. Neuroprotection and neurodegenerative disease. *Journal of Clinical Neuroscience.* 2002;9(1):4-8
- (12) Djaldetti R, Lev N, E. M. Neuroprotection in progressive brain disorders. *IMAJ.* 2003;5:576-80.
- (13) Gordon P. Amyotrophic lateral sclerosis: pathophysiology, diagnosis and management. *CNS Drugs.* 2011;25(1):1-15.
- (14) Siciliano G, Carlesi C, Pasquali L, Piazza S, Pietracupa S, Fornai F, et al. Clinical trials for neuroprotection in ALS. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2010;9(3):305-13.
- (15) Zhu Y, Fotinos A, Mao LL, Atassi N, Zhou EW, Ahmad S, et al. Neuroprotective agents target molecular mechanisms of disease in ALS. *Drug Discov Today* 2014:1-11.
- (16) Yacila G, Y S. Potential Therapeutic Drugs and Methods for the Treatment of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Curr Med Chem* 2014;21(31):3583-93.

- (17) Kawamata H, Manfredi G. Mitochondrial dysfunction and intracellular calcium dysregulation in ALS. *Mech Ageing Dev.* 2010 Jul-Aug;131(7-8):517-26. doi: 10.1016/j.mad.2010.05.003. Epub 2010 May 20.
- (18) Palomo G, Manfredi G. Exploring new pathways of neurodegeneration in ALS: The role of mitochondria quality control. *Brain Res.* 2014:1-11.
- (19) Ladd AC, Keeney PM, MM G, Jr. BJ. Mitochondrial oxidative phosphorylation transcriptome alterations in human amyotrophic lateral sclerosis spinal cord and blood. *Neuromolecular Med.* 2014;16(4):714-26
- (20) Tan W, Pasinelli P, D. T. Role of mitochondria in mutant SOD1 linked amyotrophic lateral sclerosis. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1842(8):1295-301.
- (21) Higgins C, Jung C, Z X. ALS-associated mutant SOD1G93A causes mitochondrial vacuolation by expansion of the intermembrane space and by involvement of SOD1 aggregation and peroxisomes. *BMC Neurosci.* 2003;4:16.
- (22) Kong J, Xu Z. Massive mitochondrial degeneration in motor neurons triggers the onset of amyotrophic lateral sclerosis in mice expressing a mutant SOD1. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 1998;18:3241-50.
- (23) Sasaki S, M. I. Mitochondrial alterations in the spinal cord of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007;66:10-6.
- (24) Wang W, Li L, Lin WL, Dickson DW, Petrucelli L, Zhang T, et al. The ALS disease-associated mutant TDP-43 impairs mitochondrial dynamics and function in motor neurons. *Hum Mol Genet.* 2013;22:4706-19.
- (25) Magwere T, West M, Riyahi K, Murphy MP, Smith RA, et, et al. The effects of exogenous antioxidants on lifespan and oxidative stress resistance in *Drosophila melanogaster*. *Mech Ageing Dev.* 2006;127(4):356-70.
- (26) Miquel E, Cassina A, Martínez-Palma L, Souza JM, Bolatto C, Rodríguez-Bottero S, et al. Neuroprotective effects of the mitochondria-targeted antioxidant MitoQ in a model of inherited amyotrophic lateral sclerosis. *Free Radic Biol Med.* 2014;70:204-13.
- (27) Cassina P, Cassina A, Pehar M, Castellanos R, Gandelman M, de León A, et al. Mitochondrial dysfunction in SOD1G93A-bearing astrocytes promotes

motor neuron degeneration: prevention by mitochondrial-targeted antioxidants. *J Neurosci*. 2008;28(16):4115-22.

(28)Costello RB, Lentino CV, Boyd CC, O'Connell ML, Crawford CC, Sprengel ML, et al. The effectiveness of melatonin for promoting healthy sleep: a rapid evidence assessment of the literature. *Nutr J*. 2014;13(1):106.

(29)Paredes SD, Forman KA, García C, Vara E, Escames G, JA. T. Protective actions of melatonin and growth hormone on the aged cardiovascular system. . *Horm Mol Biol Clin Investig* 2014;18(2):79-88.

(30)Wang X. The antiapoptotic activity of melatonin in neurodegenerative diseases. *CNS Neurosci Ther*. 2009;15(4):345-57.

(31)Leon J, Acuna-Castroviejo D, Escames G, Tan DX, RJ. R. Melatonin mitigates mitochondrial malfunction. *J Pineal Res*. 2005;38:1-9.

(32)Reiter RJ, Tan DX, A. G. Melatonin: exceeding expectations. *Physiology (Bethesda)* 2014;29(5):325-33.

(33)Weishaupt JH, Bartels C, Pölking E, Dietrich J, Rohde G, Poeggeler B, et al. Reduced oxidative damage in ALS by high-dose enteral melatonin treatment. *J Pineal Res* 2006;41(4):313-23.

(34) Zhang Y, Cook A, Kim J, Baranov SV, Jiang J, Smith K, et al. Melatonin inhibits the caspase-1/cytochrome c/caspase-3 cell death pathway, inhibits MT1 receptor loss and delays disease progression in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis*. 2013;55:26-35.

(35)Sánchez-Hidalgo M, Guerrero Montávez JM, Carrascosa-Salmoral Mdel P, Naranjo Gutierrez Mdel C, Lardone PJ, CA. dILR. Decreased MT1 and MT2 melatonin receptor expression in extrapineal tissues of the rat during physiological aging. *J Pineal Res*. 2009;46(1):29-35.

(36)Savaskan E, Olivieri G, Brydon L, Jockers R, Kräuchi K, Wirz-Justice A, et al. Cerebrovascular melatonin MT1-receptor alterations in patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2001;308(1):9-12.

(37)Wang X, Sirianni A, Pei Z, Cormier K, Smith K, Jiang J, et al. The melatonin MT1 receptor axis modulates mutant Huntingtin-mediated toxicity. *J Neurosci*. 2011;31(41):14496-507.

- (38) Carocci A, Catalano A, MS. S. Melatonergic drugs in development. *Clin Pharmacol*. 2014;6:127-37.
- (39) Madeo F, Eisenberg T, G. K. Autophagy for the avoidance of neurodegeneration. *Genes Dev*. 2009;23(19):2253-9.
- (40) Li L, Zhang X, W. L. Altered macroautophagy in the spinal cord of SOD1 mutant mice. *Autophagy*. 2008;4(3):290-3.
- (41) Hetz C, Thielen P, Matus S, Nassif M, Court F, Kiffin R, et al. XBP-1 deficiency in the nervous system protects against amyotrophic lateral sclerosis by increasing autophagy. *Genes Dev*. 2009;23(19):2294-306.
- (42) Morimoto N, Nagai M, Ohta Y, Miyazaki K, Kurata T, Morimoto M, et al. Increased autophagy in transgenic mice with a G93A mutant SOD1 gene. *Brain Res*. 2007;1167:112-7.
- (43) Castillo K, Nassif M, Valenzuela V, Rojas F, Matus S, Mercado G, et al. Trehalose delays the progression of amyotrophic lateral sclerosis by enhancing autophagy in motoneurons. *Autophagy*. 2013;9(1308-1320).
- (44) Kim J, Kim TY, Cho KS, Kim HN, JY. K. Autophagy activation and neuroprotection by progesterone in the G93A-SOD1 transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis*. 2013;59:80-5.
- (45) Zhang X, Li L, Chen S, Yang D, Wang Y, Zhang X, Wang Z, Le W. Rapamycin treatment augments motor neuron degeneration in SOD1(G93A) mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Autophagy*. 2011 Apr;7(4):412-25. Epub 2011 Apr 1.
- (46) Bhattacharya A, Bokov A, Muller FL, Jernigan AL, Maslin K, Diaz V, et al. Dietary restriction but not rapamycin extends disease onset and survival of the H46R/H48Q mouse model of ALS. *Neurobiol Aging* 2012;33:1829-32.
- (47) Staats KA, Hernandez S, Schonefeldt S, Bento-Abreu A, Dooley J, Van Damme P, et al. Rapamycin increases survival in ALS mice lacking mature lymphocytes. *Mol Neurodegener* 2013;8:31.
- (48) Chen J, Wang L, Wu C, Hu Q, Gu C, Yan F, Li J, Yan W, Chen G. J Melatonin-enhanced autophagy protects against neural apoptosis via a

mitochondrial pathway in early brain injury following a subarachnoid hemorrhage. *Pineal Res.* 2014 Jan;56(1):12-9.

(49) Choi SI, Kim KS, Oh JY, Jin JY, Lee GH, Kim EK. Melatonin induces autophagy via an mTOR-dependent pathway and enhances clearance of mutant-TGFB1p. *J Pineal Res.* 2013 May;54(4):361-72

(50) Pacher P, Bátkai S, G. K. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol Rev.* 2006;58(3):389-462.

(51) Velayudhan L, Van Diepen E, Marudkar M, Hands O, Suribhatla S, Prettyman R, et al. Therapeutic potential of cannabinoids in neurodegenerative disorders: a selective review. . *Curr Pharm Des* 2014;20(13):2218-30.

(52) Amtmann D, Weydt P, Johnson KL, Jensen MP, GT. C. Survey of cannabis use in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Hosp Palliat Care* 2004;21(2):95-104.

(53) Weydt P, Hong S, Witting A, Möller T, Stella N, M. K. Cannabinol delays symptom onset in SOD1 (G93A) transgenic mice without affecting survival. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2005;6(3):182-4.

(54) da Silva VK, de Freitas BS, da Silva Dornelles A, Nery LR, Falavigna L, Ferreira RD, et al. Cannabidiol normalizes caspase 3, synaptophysin, and mitochondrial fission protein DNM1L expression levels in rats with brain iron overload: implications for neuroprotection. *Mol Neurobiol.* 2014;49(1):222-33.

(55) Moreno-Martet M, Espejo-Porrás F, Fernández-Ruiz J, de, Lago, E. Changes in endocannabinoid receptors and enzymes in the spinal cord of SOD1(G93A) transgenic mice and evaluation of a Sativex(®) -like combination of phytocannabinoids: interest for future therapies in amyotrophic lateral sclerosis. *CNS Neurosci Ther.* 2014;20(9):809-15.

(56) Chiaroni A, Bellocchio L, Blázquez C, Resel E, Soria-Gómez E, Cannich A, et al. A restricted population of CB1 cannabinoid receptors with neuroprotective activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111(22):8257-62.

(57) Kumar P, Kalonia H, K. A. Huntington's disease: pathogenesis to animal models. *Pharmacol Rep.* 2010;62(1):1-14.

- (58) Ona V, Li M, John A, Sohall Q, Khan PE, Stieg RM, et al. Inhibition of caspase-1 slows disease progression in a mouse model of Huntington's disease. *Nature*. 1999;399:263-7.
- (59) Chen M, Ona VO, Li M, et al. Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington disease. *Nat Med* 2000;6:797-801.
- (60) Túnez I, Sánchez-López F, Agüera E, Fernández-Bolaños R, Sánchez FM, I. T-C. Important role of oxidative stress biomarkers in Huntington's disease. *J Med Chem*. 2011;54(15):5602-6.
- (61) Klepac N, Relja M, Klepac R, Hećimović S, Babić T, Trkulja, et al. Oxidative stress parameters in plasma of Huntington's disease patients, asymptomatic Huntington's disease gene carriers and healthy subjects : a cross-sectional study. *J Neurol*. 2007;254(12):1676-83.
- (62) Hutchinson M, Fox RJ, Havrdova E, Kurukulasuriya NC, Sarda SP, Agarwa S, et al. Efficacy and safety of BG-12 (dimethyl fumarate) and other disease-modifying therapies for the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis: a systematic review and mixed treatment comparison. *Current Medical Research & Opinion*. 2014, 30:613-17.
- (63) Lee DH, Gold R, Linker RA. Mechanisms of oxidative damage in multiple sclerosis and neurodegenerative diseases: therapeutic modulation via fumaric acid esters. *Int J Mol Sci* 2012;13:11783–803.
- (64) Jin YN, Yu YV, Gundemir S, Jo C, Cui M, Tieu K, et al. Impaired Mitochondrial Dynamics and Nrf2 Signaling Contribute to Compromised Responses to Oxidative Stress in Striatal Cells Expressing Full-Length Mutant Huntingtin. *PLoS ONE*, 2013, 8(3):e57932
- (65) Stack C, Ho D, Wille E, Calingasan NY, Williams C, Liby K, et al. Triterpenoids CDDO-ethyl amide and CDDO-trifluoroethyl amide improve the behavioral phenotype and brain pathology in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Free Radic Biol Med* 2010;49:147–58.

- (66) Sari Y. Potential drugs and methods for preventing or delaying the progression of Huntington's disease. *Recent Pat CNS Drug Discov* 2011;6(2):80-90.
- (67) Ribeiro FM, Paquet M, Ferreira LT, Cregan T, Swan P, Cregan SP, et al. Metabotropic glutamate receptor-mediated cell signaling pathways are altered in a mouse model of Huntington's disease. *J Neurosci*. 2010;30(1):316-24.
- (68) Doria JG, de Souza JM, Andrade JN, Rodrigues HA, Guimaraes IM, Carvalho TG, et al. The mGluR5 positive allosteric modulator, CDPBB, ameliorates pathology and phenotypic signs of a mouse model of Huntington's disease. *Neurobiol Dis*. 2015;73:163-73.
- (69) Doria JG, Silva FR, de Souza JM, Vieira LB, Carvalho TG, Reis HJ, et al. Metabotropic glutamate receptor 5 positive allosteric modulators are neuroprotective in a mouse model of Huntington's disease. *Br J Pharmacol*. 2013;169(4):909-21.
- (70) Zádori D, Nyiri G, Szonyi A, Szatmári I, Fülöp F, Toldi J, et al. Neuroprotective effects of a novel kynurenic acid analogue in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *J Neural Transm*. 2011;118(6):865-75.
- (71) Fukui S, Schwarcz R, Rapoport SI, Takada Y, OR S. Blood-brain barrier transport of kynurenines: implications for brain synthesis and metabolism. *J Neurochem*. 1991;56:2007-17
- (72) Anitha M, Nandhu MS, Anju TR, Jes P, Paulose, CS. Targeting glutamate mediated excitotoxicity in Huntington's disease: neural progenitors and partial glutamate antagonist--memantine. *Med Hypotheses*. 2011;76(1):138-40.
- (73) Ondo WG, Mejia NI, CB. H. A pilot study of the clinical efficacy and safety of memantine for Huntington's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2007;13(7):453-4.