



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIAS
DA VIDA E DA NATUREZA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOCIÊNCIAS**

**EFEITO DE MICRODOSES DE CANABINOIDES PARA TRATAMENTO DA DOENÇA DE
ALZHEIMER: UM ENSAIO CLÍNICO, DUPLO-CEGO, RANDOMIZADO E CONTROLADO
POR PLACEBO**

RAFAEL DE MORAIS CURY

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná
2023

**EFEITO DE MICRODOSES DE CANABINOIDES PARA TRATAMENTO DA DOENÇA DE
ALZHEIMER: UM ENSAIO CLÍNICO, DUPLO-CEGO, RANDOMIZADO E CONTROLADO
POR PLACEBO**

RAFAEL DE MORAIS CURY

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Francisney Pinto do Nascimento

Coorientador(a): Prof(a). Dr(a). Elton Gomes da Silva

RAFAEL DE MORAIS CURY

EFEITO DE MICRODOSES DE CANABINOIDES PARA TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER: UM ENSAIO CLÍNICO, DUPLO-CEGO, RANDOMIZADO E CONTROLADO POR PLACEBO

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Francisney Pinto do Nascimento
Orientador
UNILA

Dr(a). Gleisson Alisson Pereira de Brito
Examinador(a)
UNILA

Dr(a). Eduardo Luiz Gasnhar Moreira
Examinador(a)
UFSC

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná, 15 de dezembro de 2023.

Catálogo elaborado pelo Setor de Tratamento da Informação
Catálogo de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - PTI

C982

Cury, Rafael de Moraes.

Efeito de microdoses de Canabinoides para tratamento da Doença de Alzheimer: um ensaio clínico, duplo-cego, randomizado e controlado por placebo / Rafael de Moraes Cury. - Foz do Iguaçu, 2023.
104f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, Pós-Graduação em Biociências. Foz do Iguaçu – PR, 2024.

Orientador: Prof. Dr. Francisney Pinto do Nascimento.

Coorientador: Prof. Dr. Elton Gomes da Silva.

1. Alzheimer. 2. THC. 3. CBD. 4. Cognição. 5. Demência. I. Nascimento, Francisney Pinto do. II. Silva, Elton Gomes da. III. Título.

CDU 615.21:616-01

A todos os pacientes que se dispuseram a esta pesquisa, e aos futuros, que permitiram a possibilidade de melhora na qualidade de vida do próximo.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio dos integrantes do Laboratório de Cannabis Medicinal e Ciência Psicodélica, em especial Taynara, Yasmin e Karlin, meu muito obrigado. Agradeço aos professores, mentores e amigos, Dr Francisney e Dr Elton, que tive o prazer de dividir momentos, trabalhos, dificuldades e desafios, sempre com muito diálogo e construção, agradeço profundamente a toda essa equipe que faço parte com muito orgulho.

Quero agradecer a minha família, meus pais José Eduardo Cury e Isabel Cássia de Moraes, por sempre me apoiarem e por fazerem esse percurso ser possível. Quero agradecer a meus irmãos e amigos Luiz Angelo, João Flávio, João Paulo, Jean, Ana, Germano e Vitor por terem me apoiado me alimentado com inúmeras conversas que me estimulavam e me faziam ir longe às teorizações.

Agradeço à UNILA e ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, como também quero agradecer ao Dr. Kelvinson, Dr. Fernando, Dr. Andres, Dra. Maíra Bicca e Dr. Fabricio Pamplona pelo apoio e suporte para o desenvolvimento deste ensaio clínico.

Um agradecimento especial a ABRACE pelo fornecimento de todo o extrato utilizado nesse estudo. Cabe ressaltar também a contribuição do Hospital Padre Germano Lauck de Foz do Iguaçu, que nos forneceu todo equipamento e suporte para realização das coletas de líquido.

Aproveito para agradecer a todos os Pacientes e Cuidadores que voluntariamente se disponibilizaram e se dedicaram durante todo esse tempo, permitiram mais um passo no desenvolvimento para um tratamento eficaz para Doença de Alzheimer.

Obrigado a todos os envolvidos por contribuírem para a pesquisa, um ensaio clínico deste porte só foi possível de ser realizado devido à dedicação e esforço de cada um.

“Toda a nossa ciência, comparada com a realidade, é primitiva e infantil – e, no entanto, é a coisa mais preciosa que temos.”

Albert Einstein

CURY, Rafael de Moraes. 2023. **Efeito de microdoses de canabinoides para tratamento da doença de Alzheimer**: um ensaio clínico, duplo-cego, randomizado e controlado por placebo. Orientadores: NASCIMENTO, Francisney Pinto do (orientador); SILVA, Elton Gomes (coorientador). 104 f. Dissertação (Mestrado) - PPG-BC (Programa de Pós-Graduação em Biociências), UNILA (Universidade Federal da Integração Latino-Americana), Foz do Iguaçu.

RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) está relacionada ao acúmulo de neurotoxinas derivadas de frações beta-amilóides e da hiperfosforilação da proteína Tau, que leva a um processo de neurodegeneração e a um comprometimento cognitivo. A conexão entre demência, inflamação, frações beta amilóides (BA) e alterações no sistema endocanabinoide em modelos experimentais de DA tem sido relatada. Atualmente, há poucos estudos publicados examinando o efeito de canabinóides na patologia da DA. A premissa neste estudo é que o desequilíbrio no sistema endocanabinoide ocorre de maneira correlacionada à DA e que microdoses de canabinóides podem reestabelecer as funções cerebrais, sem indução de efeitos colaterais significativos. Avaliou-se o efeito de microdoses de canabinoides em pacientes com DA, por meio de um ensaio clínico, randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. Foram selecionados pacientes segundo os critérios da National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association. Os participantes foram divididos em dois grupos, tratado e placebo. Cada paciente tomou 0,35 mL do óleo em uma concentração de 1 mg/mL de THC e 0,7 mg/mL de CBD, administradas uma única vez ao dia, por um período de 180 dias (6 meses). O placebo foi constituído apenas por azeite de oliva. As avaliações clínicas mensais foram com o uso das ferramentas Mini Exame do Estado Mental (MEEM), Escala de avaliação da DA (ADAS-cog) e DSRS. Além disso, o estudo constou de coletas de líquido antes do tratamento (base line – T0), e ao final da pesquisa (T6) para quantificação de BDNF e TAU total. Foram avaliados 141 participantes, 113 foram excluídos devido aos critérios, restando 28. Destes 24 participantes terminaram o estudo. Após, randomização foi possível obter homogeneidade dos grupos para as características epidemiológicas, sociodemográficas e clínicas. Pela análise ANCOVA com variável dependente o último tempo de pesquisa (T6), variável independente grupo tratado/placebo e covariável o basal de cada paciente pela escala CDR, foi possível obter diferença estatística para o escore MEEM ($p=0,028$) com melhora da capacidade cognitiva no grupo tratado, demonstrando uma melhora cognitiva sustentada ao final de seis meses de tratamento. Já para o ADAS-cog ($p=0,854$) e DSRS ($p=0,725$) não foi encontrado diferença estatística. Pelo método estatístico ANOVA de medidas repetidas não se obteve uma diferença estatística nas dosagens de BDNF e TAU total tanto entre os grupos como entre T0 e T6. Este estudo demonstrou evidência clínica que o tratamento com canabinoide é eficaz para tratar a DA após seis meses de tratamento. Os resultados deste trabalho sugerem novas abordagens terapêuticas para a DA baseando-se em canabinóides.

Palavras-chave: Alzheimer; cognição; demência; THC; CBD.

CURY, Rafael de Morais. 2023. **Efecto de microdosis de cannabinoides para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer: un ensayo clínico doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo.** Asesores: NASCIMENTO, Francisney Pinto do (asesor); SILVA, Elton Gomes (co-asesor). 104 h. *Disertación (Maestría) - PPG-BC (Programa de Postgrado en Biociencias), UNILA (Universidad Federal de la Integración Latinoamericana), Foz do Iguaçu*

RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) está relacionada con la acumulación de neurotoxinas derivadas de fracciones beta-amiloides y la hiperfosforilación de la proteína Tau, lo que conduce a un proceso de neurodegeneración y deterioro cognitivo. Se ha informado de la conexión entre la demencia, la inflamación, las fracciones de beta amiloide (BA) y los cambios en el sistema endocannabinoide en modelos experimentales de EA. Actualmente, existen pocos estudios publicados que examinen el efecto de los cannabinoides en la patología de la EA. La premisa de este estudio es que el desequilibrio en el sistema endocannabinoide se produce de manera correlacionada con la EA y que las microdosis de cannabinoides pueden restaurar las funciones cerebrales sin inducir efectos secundarios significativos. El efecto de las microdosis de cannabinoides en pacientes con EA se evaluó mediante un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo. Los pacientes fueron seleccionados según los criterios del Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Comunicativos y Accidentes Cerebrovasculares y la Asociación de Enfermedad de Alzheimer y Trastornos Relacionados. Los participantes se dividieron en dos grupos, tratados y placebo. Cada paciente tomó 0,35 mL del aceite a una concentración de 1 mg/mL de THC y 0,7 mg/mL de CBD, administrados una vez al día, por un período de 180 días (6 meses). El placebo consistió únicamente en aceite de oliva. Se realizaron evaluaciones clínicas mensuales utilizando el Mini Examen del Estado Mental (MMSE), la Escala de Evaluación de AD (ADAS-cog) y las herramientas DSRS. Además, el estudio consistió en recolecciones de LCR antes del tratamiento (línea de base – T0) y al final de la investigación (T6) para la cuantificación de BDNF y TAU total. Se evaluaron 141 participantes, 113 fueron excluidos por el criterio, quedando 28. De estos, 24 participantes completaron el estudio. Después de la aleatorización, fue posible obtener homogeneidad de los grupos en cuanto a características epidemiológicas, sociodemográficas y clínicas. Mediante análisis ANCOVA con la variable dependiente el último tiempo de investigación (T6), variable independiente tratado/grupo placebo y covariable línea base de cada paciente mediante la escala CDR, fue posible obtener diferencia estadística para el puntaje MMSE ($p=0,028$) con mejora de la capacidad cognitiva en el grupo tratado, demostrando una mejora cognitiva sostenida al final de los 6 meses de tratamiento. Para ADAS-cog ($p=0,854$) y DSRS ($p=0,725$) no se encontró diferencia estadística. Utilizando el método estadístico ANOVA de medidas repetidas, no hubo diferencias estadísticas en las dosis de BDNF y TAU total ni entre los grupos ni entre T0 y T6. Este estudio demostró evidencia clínica de que el tratamiento con cannabinoides es eficaz en el tratamiento de la EA después de 6 meses de tratamiento. Los resultados de este trabajo sugieren nuevos enfoques terapéuticos para la EA basados en cannabinoides.

Palabras clave: Alzheimer; cognición; locura; THC; CDB.

CURY, Rafael de Morais. 2023. ***Effect of microdoses of cannabinoids for the treatment of Alzheimer's disease: a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial.*** Advisors: NASCIMENTO, Francisney Pinto do (advisor); SILVA, Elton Gomes (co-advisor). 104 p. Master's thesis (Master's degree) - PPG-BC (Graduate Program in Biosciences), UNILA (Federal University of Latin American Integration), Foz do Iguaçu.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is related to the accumulation of neurotoxins derived from beta-amyloid fractions and the hyperphosphorylation of the Tau protein, which leads to a process of neurodegeneration and cognitive impairment. The connection between dementia, inflammation, amyloid beta (BA) fractions and changes in the endocannabinoid system in experimental models of AD has been reported. Currently, there are few published studies examining the effect of cannabinoids on AD pathology. The premise in this study is that imbalance in the endocannabinoid system occurs in a correlated manner with AD and that microdoses of cannabinoids can restore brain functions without inducing significant side effects. The effect of microdoses of cannabinoids in patients with AD was evaluated through a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. Patients were selected according to the criteria of the National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association. Participants were divided into two groups, treated and placebo. Each patient took 0.35 mL of the oil at a concentration of 1 mg/mL of THC and 0.7 mg/mL of CBD, administered once a day, for a period of 180 days (6 months). The placebo consisted only of olive oil. Monthly clinical assessments were made using the Mini Mental State Examination (MMSE), AD Assessment Scale (ADAS-cog) and DSRS tools. Furthermore, the study consisted of CSF collections before treatment (base line – T0), and at the end of the research (T6) for quantification of BDNF and total TAU. 141 participants were evaluated, 113 were excluded due to the criteria, leaving 28. Of these, 24 participants completed the study. After randomization, it was possible to obtain homogeneity of the groups for epidemiological, sociodemographic and clinical characteristics. By ANCOVA analysis with the dependent variable the last research time (T6), independent variable treated/placebo group and covariate the baseline of each patient using the CDR scale, it was possible to obtain a statistical difference for the MMSE score ($p=0.028$) with improved capacity cognitive in the treated group, demonstrating a sustained cognitive improvement at the end of 6 months of treatment. For ADAS-cog ($p=0.854$) and DSRS ($p=0.725$) no statistical difference was found. Using the repeated measures ANOVA statistical method, there was no statistical difference in the BDNF and total TAU dosages either between the groups or between T0 and T6. This study demonstrated clinical evidence that cannabinoid treatment is effective in treating AD after 6 months of treatment. The results of this work suggest new therapeutic approaches for AD based on cannabinoids.

Keywords: Alzheimer; cognition; dementia; THC; CBD.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma descrevendo da convocação a definição dos grupos de intervenção	43
---	----

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Gráfico das médias dos deltas calculados para o grupo placebo e tratado para o MEEM em cada tempo de tratamento em semanas.....	49
Gráfico 2. Gráfico dos valores de absorbância para BDNF pelo método ELISA do grupo placebo e tratado.....	57
Gráfico 3. Gráfico dos valores de absorbância para Tau total pelo método ELISA do grupo placebo e tratado.....	57

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Características epidemiológicas e sociodemográficas.....	44
Tabela 2. Características clínicas e <i>baseline</i> dos pacientes.....	45
Tabela 3. Escore MEEM em cada momento de avaliação (T1: 4 semanas, T2: 8 semanas, T3: 12 semanas e T6: 24 semanas de tratamento / p: grupo placebo, t: grupo tratado)....	46
Tabela 4. Escore Delta do MEEM em cada momento de avaliação (Delta-T1: T1 – T0, Delta-T2: T2 – T0, Delta-T3: T3 – T0, Delta-T6: T6 – T0 / p: grupo placebo, t: grupo tratado).....	47
Tabela 5. Análise de covariância na diferença entre grupo placebo e grupo tratado para o MEEM – ANCOVA.....	48
Tabela 6. Escore ADAS-cog em cada momento de avaliação (T1: 4 semanas, T2: 8 semanas, T3: 12 semanas e T6: 24 semanas de tratamento / p: grupo placebo, t: grupo tratado).....	49
Tabela 7. Escore Delta do ADAS-cog em cada momento de avaliação (Delta-T1: T1 – T0, Delta-T2: T2 – T0, Delta-T3: T3 – T0, Delta-T6: T6 – T0 / p: grupo placebo, t: grupo tratado).....	50
Tabela 8. Escore DSRS em cada momento de avaliação (T1: 4 semanas, T2: 8 semanas, T3: 12 semanas e T6: 24 semanas de tratamento / p: grupo placebo, t: grupo tratado)....	51
Tabela 9. Escore Delta do DSRS em cada momento de avaliação (Delta-T1: T1 – T0, Delta-T2: T2 – T0, Delta-T3: T3 – T0, Delta-T6: T6 – T0 / p: grupo placebo, t: grupo tratado).....	52
Tabela 10. Análise de covariância na diferença entre grupo placebo e grupo tratado para o ADAS-cog e DSRS – ANCOVA.....	53
Tabela 11. Valores de absorbância pelo método Elisa de TAU total (p: grupo placebo, t: grupo tratado/ T0 antes do tratamento, T6: 24 semanas de tratamento).....	54
Tabela 12. Valores de absorbância pelo método Elisa de BDNF (p: grupo placebo, t: grupo tratado/ T0 antes do tratamento, T6: 24 semanas de tratamento).....	55
Tabela 13. ANOVA de medidas repetidas 2 critérios para TAU total (tempo de tratamento: T0 e T6), (intervenção: tratado e placebo).....	56
Tabela 14. ANOVA de medidas repetidas 2 critérios para BDNF (tempo de tratamento: T0 e T6), (intervenção: tratado e placebo).....	56
Tabela 15. Efeitos adversos relatados durante o tratamento.....	59
Tabela 16. Evidências da atuação dos canabinoides na DA.....	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-AG	2-Araquidonoilglicerol
ADAS-cog	<i>Alzheimer's Disease Assessment Scale</i>
ADRDA	<i>Alzheimer's Disease and Related Disorders Association</i>
ATP	Adenosina trifosfato
AEA	<i>N</i> -araquidonoiletanolamina
AMPc	Adenosina monofosfato cíclica
ANCOVA	Análise de covariância
ANOVA	Análise de variância
ARIA-E	Amyloid related imaging abnormalities-edema
ARIA-H	Amyloid related imaging abnormalities-hemorrhage
AVC	Acidente vascular cerebral
BA	β -Amiloide
BA42	β -Amiloide porção 42
BA40	β -Amiloide porção 40
BFGF	Basic Fibroblast Growth Factor
Ca ²⁺	Íon Cálcio
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CB1	Receptor Canabinoide Tipo 1
CB1	Receptor Canabinoide Tipo 1
CBD	Canabidiol
CDR	<i>Clinical Dementia Rating</i>
DA	Doença de Alzheimer
DAGL	Diacilglicerol Lipase
DSM-5	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i>
DSRS	<i>Dementia severity rating scale</i>
EGICG	Escala de gravidade da Impressão Clínica Global
EMICG	Escala de Melhoria da Impressão Clínica Global
FAAH	Amida Hidrolase de Ácido Graxo
FAST	Functional Assessment Staging
GPCRs	Receptores Acoplados à Proteína G
GSK	Glicogênio sintase quinase
GPR119	Receptor GPR119
GPR55	Receptor GPR55

GABA	Neurotransmissor GABA
GIRK	Canal iônico GIRK
IL-1B	Interleucina-1B
IL-6	Interleucina-6
ISRS	Inibidor seletivo da recaptação de serotonina
K+	Íon Potássio
MAGL	Monoacilglicerol Lipase
MEEM	Mini exame do estado mental
NMDA	N-Metil-D-Aspartato
NIAA	<i>National Institute on Aging-Alzheimer's Association</i>
NINCDS	<i>National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke</i>
PPA	Proteína precursora amiloide
PT	Proteína Tau
SEC	Sistema Endocanabinoide
SNC	Sistema Nervoso Central
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
THC	Δ^9 -Tetraidrocanabinol
TRPV	Receptor TRPV
TRPV1	Receptor TRPV1
PPARS	Receptor PPARS
TCE	Traumatismo cranioencefálico
TNF-a	Fator de necrose tumoral alfa
THP-1	Célula THP-1

SUMÁRIO

RESUMO	7
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
ÍNDICE DE FIGURAS	10
ÍNDICE DE GRÁFICOS	11
ÍNDICE DE TABELAS	12
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	13
1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Referencial teórico	17
1.1.1. A Doença de Alzheimer.....	17
1.1.1.1. <i>Síndrome Demencial - história e construção diagnóstica</i>	17
1.1.1.2. <i>Epidemiologia</i>	19
1.1.1.3. <i>Etiologia</i>	20
1.1.1.4. <i>Anatomopatologia e histopatologia</i>	21
1.1.1.5. <i>Patogenia e fisiopatologia</i>	22
1.1.1.6. <i>Aspectos clínicos</i>	25
1.1.1.7. <i>Tratamento Farmacológico</i>	27
1.1.2. Os Fitocanabinoides.....	28
1.1.3. O Sistema Endocanabinoide.....	31
1.2. Justificativa	34
1.3. Pergunta norteadora	35
1.4. Hipótese	35
2. OBJETIVOS	36
2.1. Geral	36
2.2. Específicos	36
3. MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1. Desenho experimental	37
3.2. Tratamento	37
3.3. Cenário de pesquisa	38
3.4. Critérios de inclusão e exclusão	38
3.5. Coleta de dados	39
3.5.1. Determinação do efeito de microdoses de canabinóides sobre a memória e déficit cognitivos de pacientes com DA.....	40

3.5.2. Determinação do efeito das microdoses de canabinóides nos valores dos marcadores moleculares BDNF e Tau total no líquido.....	41
3.6. Aspectos éticos.....	42
4. RESULTADOS.....	43
4.1. Resultados clínicos.....	45
4.2. Resultados da análise bioquímica do líquido.....	53
4.3. Aspectos éticos.....	58
4.4. Efeitos adversos.....	58
5. DISCUSSÃO.....	60
5.1. Evidências pré-clínicas.....	60
5.2. Tratamentos e considerações clínicas.....	65
5.3. Canabinóides e DA.....	71
5.4. Segurança da dose.....	73
5.5. Considerações finais.....	74
6. CONCLUSÕES.....	77
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
ANEXOS.....	100
Anexo A – Termo De Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	100
Anexo B – Parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa.....	103

1. INTRODUÇÃO

1.1. Referencial teórico

1.1.1. A Doença de Alzheimer

1.1.1.1. Síndrome Demencial - história e construção diagnóstica

A história da DA não se inicia com as definições e constatações de Alois Alzheimer's com seu trabalho publicado em 1907 (STELZMANN *et al.*, 1995), mas sim quando a entendemos dentro do conceito da Síndrome Demencial (Zimmer; Lauter, 1998) e das diferentes compreensões que as sociedades tiveram a respeito do envelhecimento e das alterações das diferentes capacidades cognitivas (ASSAL, 2019).

Assal, 2019, em seu trabalho "The history of dementia" faz uma dissertação a respeito da origem e do desenvolvimento do termo Demência derivado do latim, *demens*, que significa "fora de si", começando desde sua utilização para pejorar indivíduos com declínio cognitivo à descrição da condição da velhice. Desse modo, destacam-se períodos de entendimento dessa condição, iniciando desde o período greco-romano, passando pelo antigo Egito, ao século XVIII, com o nascimento do conceito de "Demência", e as diferentes tentativas de definir e explicar o declínio cognitivo e a velhice nestas civilizações (ASSAL, 2019).

Já no século XIX, com o reconhecimento da Demência como condição patológica e objeto da Medicina, iniciam-se as construções sobre as possíveis patogenias e tratamentos, consolidando a noção de "Síndrome" (ASSAL, 2019). Por último, o período do século XX, e adentrando o XXI em que os avanços nas pesquisas exigiram a construção, as especificações e as definições dos critérios diagnósticos, surgindo os primeiros consensos e instituições a respeito da DA (MCKHANN *et al.*, 1984; STELZMANN *et al.*, 1995; SMAIL *et al.*, 1997; ZIMMER; LAUTER, 1998; MCKHANN *et al.*, 2011; AMERICAN PSYQUIATRIC ASSOCIATION, 2014; ASSAL, 2019).

As modificações e construções conceituais do termo "Demência" culminaram, juntamente com as descobertas nos níveis clínicos, neurobiológicos e neuromoleculares (HANE *et al.*, 2017; PIKANÇO *et al.*; 2018; LANE *et al.*, 2018; KUMMAR, 2018), na definição e na especificação do conceito da "Síndrome Demencial", o qual a DA faz parte como uma das mais prevalentes (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023). Mesmo com toda esta carga histórica, pode-se dizer que a definição e o diagnóstico da DA como a conhecemos hoje, tem seu ponto de partida nas constatações dos achados anatômicos e

histopatológicos *post-mortem* descritos por Alois Alzheimer em seus trabalhos publicados de 1905 a 1907 (STELZMANN *et al.*, 1995; SMAIL *et al.*, 1997).

Apesar de um grande impacto no auxílio da distinção como uma condição nosológica específica da síndrome demencial, estes achados ainda se mantêm apenas como confirmatórios no *post-mortem*, sendo seus critérios diagnósticos principalmente clínicos, já que alterações em exames laboratoriais e de imagem não tem especificidade alta para esta patologia (MCKHANN *et al.*, 2011; HANE *et al.*, 2017; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023).

Tema de grande discussão, a construção diagnóstica, ainda em aprimoramento, possui hoje referência em dois grandes consensos, no *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM-5) e nos protocolos publicados pelo grupo de trabalho da *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke* (NINCDS) and the *Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (ADRDA), sendo este último já revisado após 27 anos da primeira publicação de 1984 por *National Institute on Aging-ALZHEIMER'S ASSOCIATION* (NIAAA), bem como outros estudos (MCKHANN *et al.*, 1984; MCKHANN *et al.*, 2011; JACK *et al.*; 2011; AMERICAN PSYQUIATRIC ASSOCIATION, 2014).

Há uma complementação entre os conteúdos definidos nestes dois consensos, uma vez que compartilham da definição: “um aparecimento gradual e progressivo de sintomas cognitivos ou comportamentais que interferem na capacidade de funcionar no trabalho ou durante atividades diárias inexplicáveis por delírio ou transtorno psiquiátrico” (MCKHANN *et al.*, 1984; MCKHANN *et al.*, 2011; JACK *et al.*; 2011; American Psychiatric Association; 2014). Apesar de agrupar a DA como um dos “Transtornos neurocognitivos leve e maior devido à DA”, o DSM-5 trabalha com as definições diagnósticas: definitivo *post-mortem* (histórico clínico e exames anátomo e histopatológicos) e, diagnóstico *ante-mortem*, dividido em duas categorias, provável ou possível, assim como o grupo NINCDS-ADRDA (MCKHANN *et al.*, 1984; AMERICAN PSYQUIATRIC ASSOCIATION, 2014).

No artigo publicado pelo grupo de trabalho do NIAAA, há uma ampliação nos critérios diagnósticos por considerarem, além dos critérios clínicos, as novas descobertas dos marcadores genéticos, das dosagens de porções beta-amilóides e dos marcadores de lesões neurológicas no líquido, bem como os exames de imagem, propondo um novo léxico de classificação da patologia, sem desconsiderar as classificações *post-mortem* e *ante-mortem* (MCKHANN *et al.*, 1984; MCKHANN *et al.*, 2011; JACK *et al.*, 2011).

Além disso, nos trabalhos de Dubois *et al.*, 2007, e de McKhann *et al.*, 2011, identifica-se uma diferença na classificação da doença, discutida no artigo de Hane *et al.*, 2017, em que as classificações de pré-clínico e clínico ficam em contrapartida a pré-sintomático/ assintomático/ pródromo, prejuízo cognitivo leve, e DA, ficando claro que há um continuum da patologia, admitindo-se hoje que há um estado pré-clínico, alvo de muitas pesquisas, tanto das que tentam buscar a possibilidade de diagnósticos precoces como das que visam um tratamento precoce eficaz a ponto de impedir a progressão da doença (DUBOIS *et al.*; 2010; MCKHANN *et al.*, 2011; HANE *et al.*, 2017; WEINSTEIN, 2017; KUMMAR, 2018).

Portanto, hoje a DA é diagnosticada a partir de critérios clínicos com o uso de testes neurocognitivos como Mini exame do estado mental (MEEM) e a Subescala Cognitiva da Escala de Avaliação da Doença de Alzheimer (sigla em inglês, ADAS-Cog), auxiliados por exames laboratoriais, sorológicos do sangue, bioquímicos do líquido cefalorraquidiano, por meio das dosagens de marcadores como BA e PT e, de exames de imagem como tomografia de crânio computadorizada (TC), ressonância magnética (RM) volumétrica, *single photon emission computed tomography* (SPECT), *positron emission tomography* (Pet SCAN), antes apenas para exclusão, agora também para fornecer dados para complementação diagnóstica e grau da patologia (HANE *et al.*, 2017; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023).

1.1.1.2. *Epidemiologia*

Cabe ressaltar que já em 2005, 24,2 milhões possuíam diagnóstico da DA no mundo, ocorrendo 4,6 milhões de novos casos todo ano e, considerando o envelhecimento da população (aumento da expectativa de vida), este número poderá dobrar por volta de 2040 (MAYEUX; STERN, 2012).

A incidência da DA aumenta com o avanço da idade, sendo uma média anual em pessoas com idades entre 65-74 anos, de 0,4 por cento (4 casos a cada 1.000 pessoas); em pessoas com idades entre 75-84 anos, a incidência anual foi de 3,2 por cento (32 casos a cada 1.000 pessoas), e para idade acima de 85 anos, a incidência foi de 7,6 por cento (76 casos a 1.000 pessoas) (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023).

Atualmente, a DA é a principal causa de demência no mundo, sendo representando até 70% dos casos (REITZ; BRAYNE; MAYEUX, 2011; LANE; HARDY; SCHOTT, 2018), entre as populações de indivíduos com idade acima de 60 anos. Na América do Norte e

Europa Ocidental há a maior prevalência (6,4% e 5,4%, respectivamente), seguidos pelos países da América Latina (4,9%) e a China e seus vizinhos do Pacífico Ocidental (4,0%) (MAYEUX; STERN, 2012). Enquanto isso, a incidência anual de demência (por 1.000 indivíduos na população) foi estimado em 10,5 para a América do Norte, 8,8 para a Europa Ocidental, 9,2 para a América Latina e 8,0 para a China e seus vizinhos do Pacífico Ocidental. (REITZ; BRAYNE; MAYEUX, 2011).

No Brasil, onde os estudos são escassos, identificaram uma prevalência de 7.7 % e incidências de 14,8 na região sul do país, ou ainda 1,2 milhão casos e a incidência de 100.000 novos casos cada ano (CHAVES; CAMOZZATO; PIAZENSKI, 2009; PIKANÇO *et al.*, 2018).

Para todas essas populações os valores são crescentes ao longo dos anos de vida com a taxas de incidência e prevalência de demência aumentando com a idade, com uma concentração maior entre a sétima e oitava décadas de vida (BRAYNE; MAYEUX, 2011; MAYEUX; STERN, 2012; POVOVA *et al.*, 2012; REITZ; GBD 2016 DEMENTIA COLLABORATORS, 2016; PIKANÇO *et al.*, 2018; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2019).

A DA dentro das condições da Síndrome demencial irreversíveis é condição mais prevalente, ultrapassando outras formas como Demência Vascular, por Corpos de Lewy, fronto temporal, entre outras (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023).

1.1.1.3. Etiologia

Além das classificações diagnósticas apresentadas, há dentro da patologia da DA uma diferenciação etiológica em duas formas básicas concebidas a partir dos estudos epidemiológicos e patogênicos/moleculares denominadas de familiar e esporádica, ou também conhecidas, respectivamente, como precoce e tardia (LANE; HARDY; SCHOTT, 2018).

A forma familiar de menor prevalência, é precoce, ocorre antes dos 60 anos, resulta de uma herança familiar autossômica dominante, relacionada a mutações próximas em porções codificadoras no gene da proteína precursora amilóide (PPA) ou nas porções do sítio-B da PPBA enzima clivadora 1 (BAEC1) nos genes da presenilina 1 e 2 (PSEN 1 e 2), cujas proteínas são componentes do complexo da gama-secretase e beta-secretase, enzimas envolvidas na formação da clivagem e dobramento da PPA e de uma variedade de proteínas de membrana tipo 1, ou seja, genes envolvidos diretamente no metabolismo da PPA (TANZ; BERTRAM, 2005; JONSSON *et al.*, 2012; ROBINSON;

HANE; LEE; LEONENKOA, 2017).

A forma esporádica é mais prevalente, tardia, ocorrendo após os 60 anos, sem histórico familiar. Atualmente é considerada multifatorial e resultado de fatores genéticos e ambientais com mais de 20 fatores de risco genéticos conhecidos, dentre eles o alelo apoE4, alelo mais tóxico de três variantes do gene da apolipoproteína E (E2, E3 e E4 - proteínas envolvidas no metabolismo e na mobilização de lipídeos, com evidências de envolvimento nas vias da PPA) (VERGHESE; CASTELLANO; HOLTZMAN; 2011; ROBINSON; HANE; LEE; LEONENKOA, 2017).

Tais fatores genéticos se somam à formação acadêmica (grau de alfabetização), sedentarismo, e condições que convergem na manutenção de um estado pró-inflamatório, desenvolvimento de resistência à insulina e disfunção do sistema imune, como obesidade, hipertensão, distúrbios vasculares, diabetes melitus tipo 2 (LI; HOLSCHER, 2007; OSKARSSON *et al.*, 2015).

Cabe ressaltar que a discussão em torno da etiologia da DA é destacada pela complexidade dos fatores genéticos envolvidos, com uma grande coleção de genes que afetam a progressão e o risco da doença, considerando as constatações epidemiológicas e novas descobertas neurofisiológicas e moleculares, com a pouca diferença clínica e fisiopatológica entre as formas (HOLTZMAN, MORRIS; GOATE, 2011; AIVES *et al.*, 2012; GENIN *et al.*, 2011; GINTER *et al.*, 2015).

1.1.1.4. Anatomopatologia e histopatologia

Do ponto de vista anatomopatológico, por meio de estudos *post-mortem* e estudos de exames de imagem, foi possível evidenciar alguns padrões do processo de neurodegeneração e atrofia cerebral, estes correlacionados com achados histopatológicos e de imunoensaios (JUCKER; WALKER; 2011; BERO *et al.*, 2011; HANE; LEE; LEONENKOA, 2017).

Principalmente nos estágios tardios e *post-mortem*, evidencia-se a diminuição da substância cinzenta, aumento dos sulcos cerebrais e diminuição de giros corticais, característico no aumento da fissura silviana, do sulco central, atrofia do hipocampo, atrofia do córtex entorrinal e dos núcleos da base (SERRANO-POZO *et al.*, 2011). Essa atrofia acompanha os achados histopatológicos e de imunoensaios dos depósitos e formação de placas BA, seguindo um padrão do neocortex para o allocortex. Após, para regiões subcorticais fronto-occipitais, regiões parieto-temporais de medial para lateral,

córtex cingulado posterior, áreas retrosplenial e pré-frontal medial (BERO *et al.*, 2011).

Já os emaranhados neurofibrilares de PT iniciam-se no *locus ceruleus*, indo para córtex entorrinal, atingindo o hipocampo, giro denteado, amígdala e neocórtex, ou seja, no somatório, de medial para lateral, e de anterior para posterior, até chegar a estruturas do tronco encefálico e controle das funções vegetativas (JUCKER; WALKER, 2011).

Um fato interessante é que estes padrões se correlacionam com as estruturas sabidamente conhecidas das vias colinérgicas da transmissão neuronal que permitem a existência das capacidades cognitivas mnemônicas e não mnemônicas, bem como o desenvolvimento do comportamento (HANE; LEE; LEONENKOA, 2017).

1.1.1.5. *Patogenia e fisiopatologia*

A partir dos primeiros achados anátomo-histopatológicos por Alois Alzheimer em seus trabalhos publicados no início do século 20, deu-se início à compreensão da doença que, hoje, com bases moleculares muito interessantes, permitem, por meio de muitas hipóteses, compreender um complexo processo patogênico e fisiopatológico (HANE; LEE; LEONENKOA, 2017).

Para compreendermos este raciocínio, primeiro precisamos fragmentar o conhecimento e entender que, com todas as evidências científicas, postulam-se as hipóteses colinérgicas e glutamatérgicas, da cascata BA, da hiperfosforilação da PT, hipótese oligomérica, metálica e muito recentemente da diabetes melitus tipo 3 e da doença priônica, essas nada excludentes e sim complementares, uma vez que auxiliam a compreensão das diferentes vias metabólicas envolvidas na neurodegeneração (FALCO *et al.*, 2016; PIKANÇO, *et al.*, 2018).

A hipótese colinérgica advém de estudos *in vitro* e *in vivo* que demonstram uma correlação entre níveis de acetilcolina e o desempenho das capacidades cognitivas. O uso de antagonistas muscarínicos e nicotínicos e, estudos de degradação das vias colinérgicas, principalmente no córtex entorrinal e hipocampo, causando piora de capacidades cognitivas, bem como o uso de compostos colinomiméticos e inibidores da acetilcolinesterase aumentando desempenho cognitivo, evidenciam e dão suporte para esta hipótese (BARTUS; EMERICH, 1999; RACCHI *et al.*, 2004; LUNARDI, 2010; KUMAR *et al.*, 2018).

A hipótese glutamatérgica se baseia no modelo da excitotoxicidade por hiperativação dos receptores NMDA, um dos três tipos de receptores mediados por

glutamato. Este neurotransmissor é amplamente liberado por neurônios lesionados pela DA e por outros distúrbios neurológicos, ou seja, em condições como alteração do metabolismo energético celular, inflamação, disfunção mitocondrial e estresse oxidativo causam excessiva ativação desses receptores alterando a homeostase do íon cálcio pelo grande influxo, alteram o gradiente eletroquímico da membrana e iniciando circuitos apoptóticos (GREENAMYRE; YOUNG, 1989; KUMAR *et al.*, 2018).

Apesar dessas investigações, podemos dizer que “o eixo central” da doença tem como base dois processos básicos: a clivagem errônea da proteína precursora amilóide (PPA) e a consequente formação de oligômeros de beta amilóide (BA), bem como a hiperfosforilação da proteína Tau, uma proteína integrante do citoesqueleto axonal, gerando a desestruturação do axônio e a formação de emaranhados neurofibrilares (GOLDE; ECKMAN; YOUNKIN, 2000; KAYED *et al.*, 2003).

A PPA é uma glicoproteína transmembrana com aproximadamente 770 aminoácidos, expressos em muitas células do corpo, como células endoteliais, epiteliais, baço, e inclusive neurônios. Seu gene é localizado no cromossomo 21, apesar de ainda haver dúvidas quanto a sua função, parece atuar como um fator autócrino de estimulação de proliferação de fibroblastos, modulador de adesão celular, na regulação intracelular de cálcio, homeostase de íons metálicos, ligação do colesterol e crescimento celular (BERO, *et al.*, 2011; HANE; LEE; LEONENKOA, 2017).

Para cumprir com sua função a PPA, como toda proteína, passa pelo processo de dobramento e clivagem pós-traducional, cujas enzimas responsáveis neste processo são a alfa, beta e gama-secretase. A isoforma beta e gama produzem peptídeos BA de 39 a 43 fragmentos, sendo o de 40, pela gama, o mais abundante, com o de 42, pela beta, mais predominantes nas placas amilóides, relacionado com maior toxicidade (HANE; LEE; LEONENKOA, 2017).

Estas porções de BA também são produzidas e acumuladas tanto intracelular como lançadas no interstício, em pessoas saudáveis são retiradas por diferentes mecanismos de proteção e limpeza, enquanto em pessoas portadoras de DA elas sofrerão desdobramentos, reconfigurações e agregações, tornando-se neurotóxicas, uma vez que devido às condições patogênicas acumulam-se e alteram a relação produção/limpeza (JUCKER; WALKER, 2011; HANE; LEE; LEONENKOA, 2017; LANE; HARDY; SCHOTT, 2018).

As porções BA uma vez formadas podem sofrer diferentes agregações formando estruturas quaternárias como fibrilas amilóides, que dão origem a monômeros e dímeros

para as placas amilóides, passando por uma variedade de estruturas intermediárias denominados de oligômeros (com íons metálico, i.e., Fe e Cu, ou não), oligômero fibrilar e protofibrila anular, possuindo diferentes graus de toxicidade (HANE; LEE; LEONENKOA, 2017; LANE; HARDY; SCHOTT, 2018).

Desse modo, uma porção BA possui duas vias, sendo uma formadora de fibras e uma formadora de oligômeros, de forma que esta última está correlacionada a maior neurotoxicidade. Trímeros tem três vezes mais toxicidade do que monômeros, enquanto tetrameros são 13 vezes mais tóxicos que os monômeros (FALCO *et al.*, 2016; HANE; LEE; LEONENKOA, 2017). Esta neurotoxicidade tem sido cada vez mais atribuída às formas solúveis dos oligômeros e menos às formações das placas senis. Inclusive, tem-se pensado como um fator protetor, fazendo parte de um dos mecanismos de clearance e proteção contra o desbalanço produção:clearance de BA (FALCO *et al.*, 2016).

A clivagem parece estabelecer inicialmente um aglomerado de oligômeros intracelulares de BA que desencadeiam respostas citotóxicas anteriores à destruição das sinapses e axônios, muito provavelmente por meio da produção de mediadores pró-inflamatórios como interleucinas 8 (IL-8) e 1 (IL-1), caspase 1, lipooxigenase 5 (Lox-5), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interferon gama (IFN-gama), que induzem à apoptose celular pela produção de caspase-3, fator nuclear kappa B ([NF- \$\kappa\$ B](#)) e ativação via receptores para produtos finais de glicação avançada (RAGE), cujo nome vem de sua capacidade de ligar produtos finais de glicação avançada, e está ligado com algumas respostas inflamatórias, muito presente em células imunológicas e sinaliza a ativação do [NF- \$\kappa\$ B](#), culminando em inflamação tecidual e à ativação de micróglia (célula responsável pelo sistema imunológico no sistema nervoso central) (CURRAIS *et al.*, 2016; HANE; LEE; LEONENKOA; 2017).

A consequente ativação microglial acaba por retroalimentar positivamente o processo inflamatório, gerando um ciclo de inflamação e apoptose, produzindo espécies reativas de oxigênio (EROs) e aumentando o consumo de ATP que acabam por gerar uma disfunção mitocondrial e mais estresse oxidativo. Além disso, parece que há um efeito direto das porções BA em receptores mitocondriais causando redução da atividade enzimática associado ao complexo IV da cadeia respiratória, redução do consumo de oxigênio, queda do metabolismo da glicose e queda da produção de ATP (PICANÇO *et al.*, 2018; KUMAR *et al.*, 2018).

A PT é uma proteína associada a microtúbulos, é solúvel e tem função de estabilizar os microtúbulos neuronais provendo estabilidade ao citoesqueleto dos axônios.

Relaciona-se com a manutenção do axônio, bem como o transporte axonal (HANE; LEE; LEONENKOA; 2017; KHAN *et al.*, 2018). Assim, como as porções BA, a PT possui a formação de diferentes formas de agregação, cujos oligômeros solúveis também são os que apresentam maior toxicidade, ou seja, há uma toxicidade relacionada a ela, fruto de um balanço entre produção e *clearance* (JUCKER; WALKER, 2011).

Emaranhados neurofibrilares são compostos principalmente por PT hiperfosforilada. Entretanto, estudos também demonstram que a hiperexpressão da proteína e sua hiperfosforilação podem ser induzidas por altas concentrações de porções BA, ou seja, a hiperfosforilação por si só pode induzir e gerar a agregação, mas aumenta a agregação quando BA está presente (JUCKER; WALKER, 2011; HANE; LEE; LEONENKOA; 2017; KHAN *et al.*, 2018). Assim, a sua deposição, acúmulo e hiperfosforilação possuem correlação com as formações BA e a progressão da DA. A formação dos emaranhados e a subsequente neurodegeneração e disfunção neurológica parece ser induzida via inflamação, ativação da enzima GSK3 (do inglês, glycogen synthase kinase 3, enzima que fosforila a PT) e estresse oxidativo, bem como mutações nos genes da proteína, que também pode estar relacionada com a demência frontotemporal (KHAN *et al.*, 2018).

Soma-se a estas evidências resultados de estudos que mostram uma maior correlação entre níveis de PT e neurodegeneração, disfunção axonal e perda sináptica, do que níveis de BA, sendo que este último assume um platô no decurso da doença (HANE; LEE; LEONENKOA; 2017., KHAN *et al.*, 2018).

Desse modo, começa a se definir que a DA é fruto não apenas das porções BA e nem apenas da PT isoladamente, e sim fruto dos mecanismos patogênicos descritos acima e, ao modificar a razão produção/*clearance* gera formação e acúmulo de BA, que por sua vez altera a razão produção/*clearance* da PT, gerando acúmulo e agregação destes dois elementos que em um efeito sinérgico geram um ciclo vicioso de inflamação, ativação de astrócitos e micróglia, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e, por fim, apoptose (JUCKER; WALKER, 2011; HANE; LEE; LEONENKOA, 2017; LANE; HARDY; SCHOTT, 2018).

1.1.1.6. Aspectos clínicos

Para abordar os aspectos clínicos da DA, é importante ter em mente a fase pré-clínica antes do início dos sinais e sintomas, o *continuum* da condição clínica, bem como

os domínios cognitivos que permitem uma organização das capacidades cognitivas, uma vez que a característica clínica da DA como um dos Transtornos neurocognitivos, segundo DSM-5, é o acometimento de início insidioso, caráter progressivo gradual, dos sintomas cognitivos e comportamentais devido à neurodegeneração (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014).

Os domínios cognitivos analisados são: atenção complexa (atenção sustentada, dividida, seletiva, velocidade de processamento); função executiva (planejamento, tomada de decisão, memória de trabalho, resposta *feedback*, correção de erros, flexibilidade mental), aprendizagem e memória (memória imediata, recente – recordação e reconhecimento, memória a longo prazo – semântica e autobiográfica, aprendizagem implícita), linguagem (expressiva – nomeação, fluência gramática e sintaxe, receptiva), perceptomotor (visual, visuoconstrutiva, práxis e gnosia) e cognição social (emoções) (MCKHANN *et al.*, 1984; MCKHANN *et al.*, 2011; AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023).

Na fase leve (inicial), geralmente acometendo memória e aprendizagem, com prejuízo da função executiva, memória curta, apresenta esquecimentos breves e cotidianos, sem prejuízos a funções no trabalho e na sociabilidade, pode ter apresentações não mnemônicas incomuns como alterações visuoespaciais e afásicas (MCKHANN *et al.*, 1984; FROTA *et al.*, 2011; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023).

Com o decorrer dos anos, cuja evolução se encontra entre períodos máximos de sete a 12 anos (MCKHANN *et al.*, 2011; LAYER *et al.*, 2016), na fase tardia, surgem também alterações das capacidades visuo-construtivas, perceptomotoras e de linguagem, além da piora das condições mnemônicas ao ponto de ter prejuízo nas atividades cotidianas, do trabalho e social, culminando em perda da autonomia e autocuidado, passando por uma fase de agitação e agressividade, e terminando com mutismo e apatia, muitas vezes em situação de imobilidade, tornando-se acamado (MCKHANN *et al.*, 2011; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023).

Desse modo, ao longo do tempo, o paciente terá prejudicada sua capacidade de adquirir e lembrar novas informações, apresentando comportamento repetitivo para perguntas ou conversas, extraviando informações pessoais, pertences, esquecimento de eventos ou compromissos, se perder em uma rota familiar (MCKHANN *et al.*, 2011; FROTA *et al.*, 2011; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023).

O raciocínio e manipulação estarão prejudicados, o que dificultará as tarefas complexas, o julgamento, a compreensão, a percepção de riscos de segurança, gerará a

incapacidade de gerenciar finanças, baixa capacidade de tomada de decisões, ou seja, a incapacidade de planejar atividades complexas ou sequenciais (MCKHANN *et al.*, 2011).

Habilidades visuoespaciais como capacidade de reconhecer rostos ou objetos comuns, ou para encontrar objetos em visão direta, apesar da boa acuidade visual, estarão prejudicadas, bem como a capacidade de manusear objetos simples ou orientar a vestimenta de roupas no corpo (MCKHANN *et al.*, 2011). A linguagem e as funções da fala também acabam por sofrer prejuízo (fala, leitura, escrita), surge a dificuldade em lembrar palavras comuns ao falar, hesitações, erros de fala, ortografia e gravação (MCKHANN *et al.*, 2011).

Mudanças na personalidade, comportamento, flutuações de humor não características, como agitação, motivação prejudicada, iniciativa, apatia, perda de motivação, retraimento social, diminuição de interesse em atividades anteriores, perda de empatia, comportamentos compulsivos ou obsessivos, comportamentos inaceitáveis socialmente acabam por surgir na fase mais avançada (MCKHANN *et al.*, 2011; FROTA *et al.*, 2011).

Cabe ressaltar que outras comorbidades podem estar presentes e gerar sua própria sintomatologia e inclusive são diagnósticos diferenciais, como depressão, *delirium*, esquizofrenia, ou outras doenças neurodegenerativas, surgindo sintomas como, humor deprimido, ansiedade, agitação, alucinações, delírios, tremores, etc (MCKHANN *et al.*, 2011; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023).

1.1.1.7. *Tratamento Farmacológico*

A natureza progressiva da DA, a sua condição multifatorial, a sua base molecular, juntamente com as suas manifestações clínicas faz com que o tratamento farmacológico seja bastante complexo (HANE *et al.*, 2017). Atualmente, os tratamentos disponíveis para a DA possuem baixa eficácia e não são capazes de interferir de nenhuma forma no caráter progressivo da doença (ALVES *et al.*; 2012; CHU, 2012; WEINSTEIN, 2017). As classes de medicamentos prescritos para o tratamento da DA são:

- 1) os inibidores da acetilcolinesterase, que atuam melhorando a transmissão colinérgica que está em déficit na DA, ou seja, considera a hipótese colinérgica (vide patogenia e fisiopatologia) (FROELICH *et al.*, 2004; LÓPEZ-POUS *et al.*, 2005);

- 2) os antagonistas glutamatérgicos para diminuir a excitotoxicidade causada pela hiperestimulação de receptores glutamatérgicos NMDA (N-metil-d-aspartato) (hipótese

glutamatérgica) (SCHNEIDER *et al.*, 2011);

3) há ainda as perspectivas da terapia anti-amiloide, ocorrendo trabalhos com quelantes como o clioquinol (SAMPSON; JENAGARATNAM; MCSHANE, 2014), inibidores das secretases β e γ (IMBIMBO; WATLING, 2019), e mais recentemente aprovado pelo FDA a imunoterapia, com a aprovação dos anticorpos monoclonais Lecanemabe em janeiro de 2023 e o Aducanumabe em junho de 2021, além de pesquisas já em fase clínica de e outros anticorpos monoclonais como o Tilavonemabe e o Donanemabe (CAVAZZONI, 2021; DECOURT; BOUMELHEM; POPE, 2021; HOY, 2023);

4) para os quadros psiquiátricos, comportamentais, as drogas convencionais como anti-psicóticos, antidepressivos, ansiolíticos, indutores de sono, são utilizadas de acordo com a particularidade entre resposta e tolerância de cada paciente (MUCKE, 2009; BANERJEE *et al.*, 2011).

A terapêutica na DA é realizada com intuito de controlar os sintomas, melhorando os aspectos cognitivos e funcionais e propiciando ao paciente uma melhor qualidade de vida. Porém, não existem, até o momento, tratamentos curativos para esta doença, sendo necessárias mais pesquisas para identificar fármacos mais efetivos, já que os que são disponíveis não intervêm na progressão da doença, mas apenas mitigam seus sintomas (FROELICH *et al.*, 2004; ALVES *et al.*, 2012; CHU, 2012).

1.1.2. Os Fitocanabinoides

A *Cannabis sativa* é uma planta pertencente a família Cannabaceae, cuja origem, evolução do gênero *Cannabis* ainda é difícil de definir, mas há evidências fósseis de folhas, sementes e pólen que demonstram sua presença na Europa e Ásia, com origem ainda em discussão na origem da *Cannabis Sativa* entre Índia e China, principalmente; o que é certo é sua ampla dispersão e variedades genéticas entre as regiões (MCPARTLAND, 2018).

É uma planta cultivada há aproximadamente 4000 a.C. com finalidade de obter fibras, muito cobiçada pela sua resistência na fabricação de tecidos e cordoaria (ZUARDI, 2006; BORGELT *et al.*, 2013).

Entretanto, apenas em 2700 a.C. seu uso foi aplicado para fins medicinais pelos chineses, entrou para farmacopeia com indicações para dor reumática, constipação

intestinal, distúrbios do sistema reprodutor feminino, malária e para anestesiarem pacientes durante procedimentos cirúrgicos (WALKER; HUANG, 2002; ZUARDI, 2006).

Os fitocanabinoides são obtidos a partir da extração da resina produzida pelos tricomas existentes principalmente nas inflorescências femininas da planta *Cannabis sativa*. Esta resina possui em sua composição terpenóides, flavonóides, canabivarinícos e os canabinóides, sendo os principais estudados o THC e o CBD (RUSSO, 2011; DONG *et al.*, 2019).

Existe certa polêmica no que se refere à natureza do canabinóide utilizado e da via de administração, alguns definindo o uso de sintéticos e isolados, e outros, o uso de preparados ou direto da flor. Russo, 2011, em seu artigo de revisão, apresenta a complexidade da resina e a grande interação dos muitos compostos da resina, nos efeitos terapêuticos desejados, apontando a necessidade de mais estudos que não só isolem compostos e os reproduzam, mas também analisem a interação entre eles (Russo, 2011).

O canabidiol (CBD) é um fitocanabinóide não psicoativo em extratos de *Cannabis* que possui alta afinidade em uma série de receptores, incluindo receptor canabinóide tipo 1 (CB1), receptor canabinóide tipo 2 (CB2), GPR55, potencial receptor transitório vanilóide (TRPV) e peroxissoma proliferador receptor gama ativado (PPAR γ) (PENG *et al.*, 2021). Ao modular as atividades destes receptores, o CBD apresenta múltiplos efeitos terapêuticos, incluindo propriedades neuroprotetoras, antiepilépticas, ansiolíticas, antipsicóticas, antidepressivas, anti-inflamatórias, analgésicas e anticancerígenas (SAITO *et al.*, 2010; CRIPPA *et al.*, 2010; PENG *et al.*, 2021).

A atuação do CBD nos receptores CB1 e CB2 parece não se ligar diretamente ao sítio ortostático dos receptores CB1 e CB2, sendo evidenciada uma atividade de ligação alostérica do CBD nesses dois receptores (MARTINEZ-PINILLA *et al.*, 2017). Tham *et al.*, 2019, demonstra que o CBD atua como um antagonista alostérico do CB1 ao mesmo tempo que um agonista dos receptores CB2, evidencia já demonstrada por Thomas *et al.*, 2007.

O THC é um fitocanabinóide e o principal constituinte da planta *Cannabis sativa* que pode ser administrado essencialmente por ingestão ou inalação. O THC sofre metabolismo pré-sistêmico e pode ser hidroxilado, oxidado, descarboxilado, epoxidado e/ou conjugado ao ácido glucurônico. O THC distribui-se no plasma (~90%), altamente lipossolúvel, e atravessa a barreira hematoencefálica principalmente em sua forma hidroxilada (ADAMS; MARTIN, 1996; FOSTER; ABRAMOVICI; HARRIS, 2019). As principais vias de administração são a ingestão e inalação, já ocorrendo a ativação pela

hidroxilação do delta 9-THC em 11 hidroxidelta 9-THC, antes mesmo da absorção. O THC sofre mecanismo de primeira passagem na ingestão, sendo que na inalação os níveis plasmáticos chegam a 100 ng/ml em poucos minutos, e decrescem na mesma intensidade. Com a inalação, a experiência de uso, velocidade, profundidade, volume e o tempo interferem na taxa de absorção (PERTWEE, 2006; PAMPLONA, 2010; FOSTER; ABRAMOVICI; HARRIS, 2019).

Quanto a sua distribuição, o THC é 90% distribuído pelo plasma e 10% por hemácias. Da porção transportado no plasma, 90-95% é ligado em proteínas (principalmente LDL, e também albumina), uma vez que o THC é altamente lipossolúvel. De 2 a 44 ug atravessam a barreira hematoencefálica, sendo a forma hidroxilada a mais predominante. Se distribui primeiro para rins e pulmão, após 3 dias, é encontrado no baço e tecido adiposo; juntamente com eles, o pulmão, fígado, rins, coração e mamas funcionam como reservatórios, sendo que em níveis mais baixos, podem ser encontrados em cérebro, testículo, córtex da adrenal, tireóide e hipófise (GROTHENHERMEN, 2003; PERTWEE, 2006; PAMPLONA, 2010; FOSTER; ABRAMOVICI; Harris, 2019).

O THC rapidamente sofre hidroxilação, oxidação, descarboxilação, epoxificação e/ou conjugação, formando ácido glucurônico e glutatiônico, sendo sua metabolização preferencialmente hepática, mas pode ser pulmonar, cardíaca e cerebral. Na hepática o sistema citocromo P450, subfamília 2C (CYP 2C) é o mais significativo dentre as rotas metabólicas. Já foram identificados 100 metabólitos diferentes, sendo os mais comuns os hidroxilados. Seus epóxidos são menos tóxicos que outros compostos e têm elevado *clearance*, uma vez que ao final de 7 dias, 50-70% terá sido excretado, mesmo com sua alta lipossolubilidade (ZUARDI; CRIPPA; GUIMARÃES, 2008).

A excreção do THC se faz principalmente pela via biliar (fezes, 60-75%) e sua meia vida de eliminação após inalação é de 56h em consumidores novatos, e 28h em costumazes. Setenta por cento da dose se excreta na primeira semana, 15-70% são reabsorvidos na circulação entero-hepática, aumentando tempo do THC no organismo (GROTHENHERMEN, 2003; PAMPLONA, 2010; FOSTER; ABRAMOVICI; HARRIS, 2019). Uma vez absorvido no organismo, o THC atua principalmente nos receptores canabinoides CB1 e CB2 sendo um agonista de alta afinidade, ele também atua em receptores vanilóides, nos receptores ativados pela proliferação de peroxissomos (PPARS) entre outros (ROSS, 2007; PAMPLONA, 2010; SAITO; WOTJAK; MOREIRA, 2010; MECHOULAM *et al.*, 2014).

O estudo desta resina e seus efeitos psicoativos foram alvos de pesquisa por Mechoulam e colaboradores em 1963 e 1964, permitindo mais tarde a descoberta do sistema endocanabinóide pela constatação de agonistas endógenos e seus receptores (MATSUDA *et al.*, 1990; DI MARZO *et al.*, 1994; MECHOULAM *et al.*, 1995).

Desse modo, os estudos desenvolvidos têm como base a descoberta do sistema endocanabinóide, que mesmo que ainda em estudo, já é colocado como um mecanismo de neuromodulação e imunomodulação importante em muitas condições fisiológicas e patológicas, além da influência na agregação plaquetária, tornando-o hoje um importante sistema a ser estudado (OLIVIERA, 2009; ANGELIS *et al.*, 2014; MALFITANO *et al.*, 2017).

1.1.3. O Sistema Endocanabinoide

A partir dos anos 1960, com a descoberta das estruturas do canabidiol (CBD) e do delta 9-tetraidrocanabinol (THC) por Mechoulam e colaboradores, foi possível o desenvolvimento científico para que nos anos 90 ocorresse a definição e o desvendamento do sistema endocanabinóide, e com isso o aumento no interesse por esta área de pesquisa. Desde as descobertas de Mechoulam e colaboradores, as pesquisas avançaram e agora, nos últimos anos, muitas têm focado em patologias com grandes potenciais terapêuticos (GAONI & MECHOULAN, 1964).

Este sistema é composto basicamente de mediadores denominados de endocanabinóides, com seus receptores (CB1 e CB2) e suas enzimas de síntese e degradação específicos (PAMPLONA; 2010; SAITO; WOTJAK; MOREIRA, 2010; MECHOULAN *et al.*, 2014). Os endocanabinóides principais são a anandamida (AEA) e o 2-araquidonoilglicerol (2-AG), e são sintetizados pelas enzimas fosfolipases D e C, respectivamente, estimuladas pelo influxo de cálcio iônico da estimulação pré-sináptica (DEVANE *et al.*, 1992; MECHOULAN *et al.*, 1995).

Os endocanabinóides sofrem degradação por duas enzimas conhecidas, a ácido graxo amida-hidrolase (FAAH) e a monoacilglicerol lipase (MAGL). Estas enzimas degradam, respectivamente, a AEA e o 2-AG, com a diferença de que a MAGL se localiza no interior da terminação pré-sináptica (MARZO; DE PETROCELLIS, 2014; WATKINS; KIM, 2014). Além disso, ainda está em estudo a existência de transportadores específicos para os endocanabinóides, complementando assim o leque de potenciais farmacológicos

que se abre com estas descobertas (GROTENHERMEN, 2003; PAMPLONA, 2010; SAITO; WOTJAK; MOREIRA, 2010).

Os endocanabinóides são secretados na célula pós-sináptica e liberados na fenda sináptica, atuando nos receptores (CB1 que está na membrana pré-sináptica), inibindo a liberação dos neurotransmissores, principalmente glutamato e gaba, através da cascata de ativação pela proteína G da adenil ciclase que inibe os canais de Ca^{2+} voltagem dependente e de canais GIRK de K^+ , atuando também na diminuição da expressão gênica de neurotransmissores (MATSUDA *et al.*, 1990; DI MARZO *et al.*, 1994; MECHOULAM *et al.*, 1995; SAITO; WOTJAK; MOREIRA, 2010; MECHOULAN *et al.*, 2014).

Assim, este sistema possui um funcionamento retrógrado de atuação com caráter inibitório da liberação de neurotransmissores, além da imunomodulação e outras regiões, como trato gastrointestinal, ainda em estudo (OLIVIERA, 2009; SAITO; WOTJAK; MOREIRA, 2010; MECHOULAN *et al.*, 2014). Os receptores canabinóides CB1 e CB2 são receptores acoplados à proteína G, de caráter inibitório, e o modelo de funcionamento baseia-se na descrição do sistema em fenda sináptica (MATSUDA *et al.*, 1990; WESTLAKE *et al.*, 1994; Di Marzo *et al.*, 1994; MECHOULAM *et al.*, 1995; SAITO; MOTZAK; MOREIRA, 2010; HOWLETT; ABOOD, 2017).

Os receptores CB1 são principalmente encontrados no sistema nervoso central (SNC) (hipocampo, regiões corticais, estriado ventral, núcleo accumbens, amígdala, hipotálamo, entre outros); já os receptores CB2 são encontrados principalmente nas células do sistema imune, envolvidos em várias etapas da defesa do organismo (adesão, rolamento, diapedese, liberação dos mediadores, entre outros) (OLIVIERA, 2009; SAITO; WOTJAK; MOREIRA, 2010; MECHOULAN *et al.*, 2014; ANGELIS *et al.*, 2014; MALFITANO *et al.*, 2017). No cérebro, os receptores CB2 são encontrados principalmente em terminais pós-sinápticos e em micróglias (MECHOULAN *et al.*, 2014).

Os endocanabinóides também podem se ligar a outros receptores além de CB1 e CB2, alguns deles são os TRPVs, como o membro 1 da subfamília V do canal catiônico potencial do receptor transitório (TRPV1), GPCR órfão 119 (GPR119), GPCR órfão 55 (GPR55) e Receptor Vanilóide, e os Receptores ativados pela proliferação de peroxissomos (PPARS) (ROSS, 2007). O SEC faz de um dos mecanismos contra a excitotoxicidade, atuando nos receptores NMDA mediado por glutamato, evitando dano neural em um ambiente inflamatório (RODRÍGUEZ-MUÑOZ *et al.*, 2016).

Há evidências de que os endocanabinóides atuem também no SNC incluindo a modulação no sistema mesolímbico (recompensa), participando da regulação da emoção,

nocicepção e homeostase do sono (PARSONS; HURD, 2015; PAVA; MAKRIYANNIS; LOVINGER, 2016; BARRIE; MANOLIOS, 2017).

Com o decorrer dos anos, as pesquisas apontaram para o efeito dos fitocannabinóides bem como a atuação do SEC no processo neuroinflamatório por evidências de diminuição de citocinas pro-inflamatórias, assim como o aumento de anti-inflamatórias (RAMIREZ *et al.*, 2005; MARTÍN-MORENO *et al.*, 2012; FARKAS *et al.*, 2012; CURRAIS *et al.*, 2016; BARRIE; MANOLIOS, 2017), o aumento da expressão de receptores CB1 e CB2, bem como enzimas e os próprios endocannabinóides onde há acúmulo e produção de BA e inflamação (BENITO *et al.*, 2003; RAMÍREZ *et al.*, 2005; TOLÓN *et al.*, 2009).

Fatores genéticos e processos como a gliose, a neuroinflamação, o estresse oxidativo, a resistência à insulina, bem como as deficiências de transporte axonal, a autofagia e a disfunção neuroquímica (por exemplo, colinérgica, glutamatérgica) estão como elementos patogênicos e fisiopatológicos podendo ser desencadeadores ou potencializadores da DA (MCGEER; MCGEER, 1995; BRAAK AND BRAAK, 1997; LUCIN; WYSS-CORAY, 2009; HOLTZMAN; MORRIS; GOATE, 2011; KHAN *et al.*, 2018). Além disso, fatores genéticos e o envelhecimento são os principais fatores de risco envolvido no desenvolvimento da DA, aumentando consideravelmente a partir dos 65 anos, duplicando a cada cinco anos após esta idade (REITZ; BRAYNE; MAYEUX, 2011; MAYEUX; STERN, 2012; POVOVA *et al.*; 2012; MOREIRA; STEFANI, 2014;).

Apesar de todo o avanço científico a respeito da patogenia e da fisiopatologia da doença, não há tratamento eficaz atual para prevenir ou impedir a progressão da doença, cuja conduta atual baseia-se apenas na busca de uma estratégia terapêutica apropriada na contenção das comorbidades e complicações que se definem com a evolução da doença (GOEDERT; SPILLANTINI, 2006; ALVES *et al.*, 2012; CHU, 2012). Posto isso, recentes estudos (BILKEI-GORZO, 2012; RUSSO, 2016; BILKEI-GORZO *et al.*, 2017) vêm discutindo uma correlação entre envelhecimento, queda do sistema endocanabinóide (SEC) e desenvolvimento da DA, uma vez que no cérebro, os receptores deste sistema estão presentes nos neurônios e nas células pertinentes ao processo inflamatório (RONAN *et al.*, 2016), demonstrando envolvimento nas atividades anti-inflamatórias, anti-apoptóticas e anti-oxidantes, bem como na estimulação neurotrófica e neurogênica (OLIVEIRA, 2009; FATTORE; 2015; BILKEI-GORZO *et al.*, 2017), permitindo que o uso de canabinóides seja uma possibilidade terapêutica para a DA.

1.2. Justificativa

Os fitocanabinoides já há anos são alvos de pesquisas principalmente com a descoberta do SEC por Mechoulam e colaboradores. Os fitocanabinoides tem-se apresentado como tratamento de epilepsia, espasticidade, condição inflamatórias, relacionados ao humor, com melhora na qualidade de vida em paliativos para HIV e Câncer, bem como condições neurológicas como Parkinson e o própria DA (Fattore, 2015).

A Doença de Alzheimer (DA) é a doença neurodegenerativa mais prevalente entre os idosos, uma causa de morte que ainda não pode ser evitada, retardada, adequadamente diagnosticada ou curada. Sua incidência e prevalência na população mundial têm aumentado consideravelmente, sendo hoje a doença demencial mais frequente na população mundial (APRAHAMIAN, 2009; TEIXEIRA *et al.*, 2015; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023).

Devido às suas características, a DA afeta de forma significativa a qualidade de vida de seus portadores e, por consequência, dos cuidadores e familiares, pois envolve uma ampla gama de sintomas cognitivos, principalmente relacionados à perda de memória recente e sério comprometimento da capacidade de aprendizado, atrelado a sintomas neuropsiquiátricos como depressão, ansiedade e distúrbios do sono (GOEDERT & SPILLANTINI, 2006).

A DA é caracterizada por um declínio progressivo da memória e de outras funções cognitivas, tais como a linguagem, orientação visuoespacial, e alterações neurocomportamentais, incluindo distúrbios do sono e do humor, psicoses e mudanças de personalidade (GOEDERT; SPILLANTINI, 2006; GOEDERT, 2015). As principais características neuropatológicas da DA são o acúmulo de frações BA no meio extracelular e hiperfosforilação da proteína Tau (PT) dos microtúbulos que formam a estrutura do axônio (STELZMANN *et al.*, 1995; HARDY; SELKOE, 2002; KAYED *et al.*, 2003).

Nos Estados Unidos da América (EUA), como exemplo de país desenvolvido, é classificada como a sexta principal causa de morte, sendo mais de cinco milhões de pessoas afetadas, com incidência de 7,6% acima dos 85 anos (ALZHEIMER'S ASSOCIATION; 2023).

Já no Brasil, apesar das diferenças etárias e econômicas e da escassez de estudos nacionais, a população idosa portadora de DA já passa de um milhão de pessoas, apresentando incidência de 7,7 – 14,8 por 1000 pessoas/ano e uma prevalência

de 7,1% em idosos com 65 anos ou mais de idade, que quando correlacionado aumento anual e progressivo associado ao envelhecimento da população, é inegável os impactos em termos de saúde pública (CHAVES *et al.*, 2009; TEIXEIRA *et al.*, 2015).

Dessa forma, a DA tornou-se um importante problema de saúde pública devido à sua alta prevalência, chegando a 32% aos 80 anos e principalmente ao fato de que o aumento da sua ocorrência está relacionado com o envelhecimento populacional que está ocorrendo no mundo todo (APRAHAMIAN, 2009; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023).

Portanto, a demanda por um tratamento efetivo para a DA torna-se um fato tanto para as ciências médicas como para as sociedades como um todo.

1.3. Pergunta norteadora

Nossas perguntas são: as microdoses de canabinóides poderiam ser um tratamento eficaz e seguro para pacientes com DA? É possível que microdoses de canabinóides atuem na patologia de modo a melhorar a capacidade cognitiva dos pacientes?

1.4. Hipótese

A soma dos eventos descritos acima é tida hoje como crucial para a influência na progressão da DA. Desse modo, neste estudo trabalha-se com a conjectura de que a depleção endocanabinóide e/ou a regulação negativa deste sistema, se manifestam de maneira dependente na DA, ou seja, uma disfunção do sistema endocanabinóide durante a progressão da DA que produz uma diminuição na atividade anti-inflamatória, anti-apoptótica, antioxidante e neurotrópica/ neurogênica o que contribui para a progressão da doença e prejuízo da memória (CAMPBELL; GOWRAN, 2007).

Nosso objetivo a curto e médio prazo é explorar o uso de microdoses de canabinóides como uma abordagem nova, segura e multialvo para a terapêutica da DA. Assim, este trabalho investigou a seguinte hipótese: H1: há efeito com uso de microdoses de canabinóides na restauração das capacidades cognitivas em pacientes com DA.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

- avaliar os efeitos de microdoses diárias de canabinóides na cognição e nos marcadores do líquido cefalorraquidiano em pacientes portadores da doença de Alzheimer.

2.2. Específicos

- avaliar o efeito de microdoses de canabinóides segundo a escala MEEM em pacientes portadores de Doença de Alzheimer como desfecho primário;
- avaliar o efeito de microdoses de canabinóides segundo a escala Dementia Severity rating scale (DSRS) em pacientes portadores da Doença de Alzheimer;
- avaliar o efeito de microdoses de canabinóides segundo a escala ADAS-cog em pacientes portadores de Doença de Alzheimer; e
- avaliar o efeito de microdoses de canabinóides sobre os aspectos bioquímicos por meio da dosagem de BDNF e Tau total em amostras de LCR nos pacientes portadores de Doença de Alzheimer.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Desenho experimental

Considerando-se o objetivo de analisar os efeitos clínicos do uso de fitocannabinóides em pacientes portadores da DA, foi realizado um estudo do tipo ensaio clínico, randomizado, duplo-cego e controlado por placebo.

A opção pela realização deste tipo de estudo foi feita pelo fato de permitir verificar uma hipótese relacionada à exposição a um fator ou recurso terapêutico ao longo do tempo, identificando efeitos e condições clínicas específicas, com o uso de técnicas padronizadas de coletas de dados e ferramentas estatísticas (HOCHMAN *et al.*, 2005; GIL, 2010).

Os ensaios clínicos randomizados vêm sendo descritos como o “*padrão ouro*” na avaliação de questões terapêuticas em saúde, uma vez que esse tipo de estudo reduz a probabilidade de obter dados tendenciosos na pesquisa (ATALLAH & CASTRO, 1998).

Neste ensaio, após avaliação dos critérios de inclusão e exclusão, foi possível obter a participação de 28 voluntários. Os integrantes após seleção foram randomizados e divididos aleatoriamente em dois grupos (A e B). O grupo A recebeu a medicação e o grupo B recebeu um placebo. Foram realizadas avaliações clínicas mensais e coletas de líquido antes de iniciar o tratamento e após 6 meses.

Para o cegamento, um membro da equipe do laboratório que não estava envolvido na execução deste estudo realizou a construção e distribuição dos códigos a partir de uma randomização utilizando-se uma ferramenta online de randomização para ensaios clínicos (<https://www.sealedenvelope.com/simple-randomiser/v1/lists>), para dispensa do tratamento, registrados em uma lista que se manteve indisponível aos pesquisadores envolvidos até o término da pesquisa.

3.2. Tratamento

O médico responsável (Elton Gomes da Silva, CRM: CRM-PR 32033) pelos pacientes e colaborador/orientador deste estudo prescreveu o tratamento para a paciente de acordo com a legislação vigente (normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária). A medicação prescrita para cada paciente foi um extrato fitoterápico doado pela ABRACE com proporção 1:0,7 de THC:CBD, administrada via oral em dose única diariamente, antes da refeição noturna.

O fármaco utilizado para o grupo A foi um extrato fitoterápico de *Cannabis* diluído em azeite de oliva, cuja concentração final era de 1 mg/mL de THC e 0,7 mg/mL de CBD. A posologia utilizada foi de 350 microgramas de THC e 245 microgramas de CBD por dia em dose única, fornecidas por meio da administração de 0,35 ml via oral, já o placebo era composto apenas pelo azeite de oliva. Ambos eram fornecidos em frasco padronizado e em momentos isolados, não permitindo verificação de diferenças entre o fármaco e o placebo. Foi realizado um teste prévio com 4 voluntários para avaliar as características organolépticas do extrato com fármaco e placebo. Nenhum dos voluntários foi capaz de distinguir características específicas de um produto em relação ao outro.

Durante a pesquisa e coleta de dados, os tratamentos convencionais dos pacientes não foi alterado.

O tratamento teve duração de 26 semanas (182 dias).

3.3. Cenário de pesquisa

As avaliações clínicas da pesquisa ocorreram no Campus Jardim Universitário da Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA), em consultório experimental do laboratório de Cannabis Medicinal e Ciência Psicodélica, na cidade de Foz do Iguaçu, Paraná. Já as coletas de líquido foram realizadas em ambiente hospitalar com material e local para coleta fornecido pelo Hospital Municipal Padre Germano Lauck, situado em Foz do Iguaçu, Paraná.

3.4. Critérios de inclusão e exclusão

Para testar a hipótese e corresponder aos objetivos propostos associados à metodologia desenvolvida, estabeleceram-se os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

1. critérios de inclusão são:

- possuir mais de 60 anos;
- ser diagnosticado (provável) com DA, segundo os critérios NINCS-ADRDA;
- estadiamento leve a moderado nas escalas *clinical dementia rating* (CDR) e *functional assessment staging* (FAST);

2. critérios de exclusão:

- possuir outras condições do sistema nervoso central que causam déficit

- progressivos na memória e na cognição, como doença cerebrovascular, doença de Parkinson, doença de Huntington, hematoma subdural, hidrocefalia de pressão normal, tumor cerebral, outras demências como a Vascolar, fronto temporal, por corpos de Lewy, entre outras);
- possuir condições sistêmicas que comprovadamente causam demência, como hipotireoidismo, insuficiência renal ou hepática, deficiência de vitamina B12 ou ácido fólico, anemia, deficiência de niacina, hipercalcemia, neurosífilis e infecção com HIV);
 - possuir condições induzidas por substâncias.
 - possuir déficit que ocorrem exclusivamente durante o curso de injúrias psiquiátricas, como psicose (ou parentes de primeiro grau com história de psicose), esquizofrenia, epilepsia ou história de abuso de substâncias psicoativas, entre outras.

3.5. Coleta de dados

As características epidemiológicas, sociodemográficas, clínicas e *baseline* dos pacientes foram coletadas e utilizadas para análise da composição da amostra.

Para as avaliações clínicas aplicou-se o uso de três ferramentas, o MEEM (BERTOLUCCI *et al.*, 1994), o ADAS-cog (CHAVES *et al.*, 2011) e o DSRS (XIE *et al.*, 2009) para acompanhar a condição clínica.

Já para as avaliações bioquímicas foram coletadas amostras de líquido cefalorraquidiano em cada paciente por meio da técnica padrão de coleta de líquido. As amostras foram armazenadas em freezer -80° e posteriormente analisadas por meio do método ELISA e determinação em espectrofotômetro para dosagem de BDNF e Tau total no líquido cefalorraquidiano.

As escalas DSRS, MEEM e ADAS-Cog foram utilizadas para avaliação cognitivo-comportamental dos pacientes em T0 (antes do tratamento), T1 (4 semanas), T2 (8 semanas), T3 (12 semanas) e T4 (24 semanas). As coletas de líquido ocorreram em T0 e em T6. Os questionários foram aplicados pelo mesmo avaliador durante toda a pesquisa, o qual possuiu treinamento e preparo prévio.

Todos os pacientes foram avaliados dentro de 1 semana para cada momento, buscando-se assim manter as condições controladas e evitar o tempo como fator de influência na coleta dos dados.

3.5.1. Determinação do efeito de microdoses de canabinóides sobre a memória e déficit cognitivos de pacientes com DA

O MEEM é amplamente empregado em estudos epidemiológicos populacionais, fazendo parte integrante de várias baterias neuropsicológicas, tais como as do CERAD (Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease), CAMDEX (Cambridge Mental Disorders of the Elderly Examination) e SIDAM (Structured Interview for the Diagnosis of Dementia of Alzheimer's type, Multi infarct Dementia) entre outras (minimalmente modificado). É um teste neuropsicológico de fácil e rápida aplicação que avalia a função cognitiva dos idosos nos seguintes domínios: orientação temporal, orientação espacial, memória imediata e de evocação, cálculo, linguagem-nomeação, repetição, compreensão, escrita e cópia de desenho. Não é um instrumento para diagnóstico, mas indica quais funções devem ser investigadas (BERTOLUCCI *et al.*, 1994; CRUM *et al.*, 1993).

A escala ADAS-Cog é uma bateria neuropsicológica breve desenvolvida para caracterizar o desempenho cognitivo de doentes com DA. É o teste para mensurar a cognição mais usado em estudos científicos e ensaios clínicos para novas intervenções. O ADAS-Cog consiste de 11 partes as quais avaliam as funções tipicamente mais comprometidas na DA considerando os seguintes domínios cognitivos: memória, orientação, linguagem, praxia e capacidade construtiva. A detecção precoce das alterações cognitivas assim como a sua monitorização são fundamentais para a prática em ambos os contextos clínico e de investigação (ROSEN *et al.*, 1984).

A DSRS é um questionário de múltipla escolha que coleta informações de um informante experiente sobre a gravidade do comprometimento em doze domínios cognitivos e funcionais. Inclui perguntas sobre memória, fala e linguagem, reconhecimento dos membros da família, orientação no tempo e no espaço, capacidade de tomar decisões, atividades sociais e comunitárias, atividades domésticas, cuidados pessoais, alimentação, incontinência (relacionada à DA). É baseado no CDR, com modificações para expandir a faixa de gravidade das habilidades funcionais avaliadas e mudanças no método usado para coletar as informações. Além disso, o intervalo numérico que define o status funcional foi expandido para expressar incrementos de mudança mais precisos. A DSRS mede toda a gama de gravidade, desde ausência de comprometimento (um escore total de 0) até um comprometimento extremo para cada

categoria avaliada (um escore total de 54) (XIE *et al.*, 2009; WEINSTEIN, 2017).

Xie e colaboradores estudando cerca de 700 pacientes portadores de DA por sete anos, pôde demonstrar que a ferramenta DSRS pode ser usada para avaliar a progressão da DA; uma vez que comparada com a escala MEEM que apresenta variação na taxa de declínio (progressão da doença) ao longo dos anos; possui uma taxa de 4,48% ao ano, fixa, linear, não variando com o grau da doença, idade, sexo e presença do alelo apoE4, permitindo a comparação entre pacientes com estas diferentes características; além de permitir a avaliação de pacientes com estágio mais avançado da doença, já que é realizado com o cuidador (XIE *et al.*, 2009).

O uso da ferramenta DSRS na coleta de dados, explicada no respectivo tópico, e da metodologia aplicada foram baseadas na proposta defendida por Weinstein, 2017, na *Medical Hypotheses*, onde traz a discussão a respeito de metodologias que permitam a investigação de tratamentos que teriam o potencial de diminuir ou até impedir a progressão da DA, mas ao mesmo tempo não teriam os custos e dificuldades dos estudos padrões, buscando-se assim simplicidade, mas com confiabilidade e qualificação científica.

3.5.2. *Determinação do efeito das microdoses de canabinóides nos valores dos marcadores moleculares BDNF e Tau total no líquor*

Os títulos da PT (total e fosforilada), determinados no LCR, são medidas de biomarcadores com maior potencial de implicação clínica. Nos pacientes com DA, observam-se aumento dos títulos de Tau total e fosforilada em relação aos idosos cognitivamente normais (DINIZ; FORLENZA, 2007; OKONKWO *et al.*, 2010).

A combinação dessa análise laboratorial com o diagnóstico clínico demonstrou boa sensibilidade e especificidade para identificar aqueles que evoluirão para DA (DINIZ; FORLENZA, 2007; OKONKWO *et al.*, 2010).

Além do diagnóstico precoce, o emprego dos biomarcadores traz novas informações a respeito dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos nas doenças, permite monitorar o curso clínico e contribui de modo significativo para o desenvolvimento de novas drogas e avaliação de sua eficácia e segurança (StARLING, 2012; CLEMENTE; PINTO, 2017).

O BDNF desempenha um papel central na neurogênese e plasticidade sináptica em diversas áreas cerebrais, regulando diversas funções biológicas tais como

crescimento axonal e conectividade, mediação do processo de sobrevivência e apoptose neuronal, além de participar na resposta local a diversos estressores neuronais e ambientais; promove, ainda, a sobrevivência de vários neurônios do SNC. Essa multiplicidade de ações em diferentes tipos de neurônios tem embasado pesquisas científicas associando as diversas doenças neurodegenerativas (SONG *et al.*, 2014; MAFFIOLETTI *et al.*, 2014).

3.6. Aspectos éticos

Antes do início da coleta de dados o projeto desta pesquisa foi aprovado (CAEE 09713219.9.0000.0107) por meio do cadastrado na Plataforma Brasil, pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), garantindo a transparência do projeto de pesquisa.

O estudo foi registrado na plataforma ReBEC – Rede Brasileira de Ensaio Clínicos – sob o número U1111-1258-2058 e seguindo diretrizes éticas internacionais, incluindo à Declaração de Helsinque e às diretrizes de Boas Práticas Clínicas. Todos os participantes forneceram consentimento informado por escrito.

Assim este trabalho respeitou a resolução N° 466 do Conselho Nacional de Saúde (MS), que trata das normas a serem seguidas quando a pesquisa utiliza seres humanos, principalmente no que tange ao uso e sigilo de informações, bem como o esclarecimento e consentimento dos envolvidos.

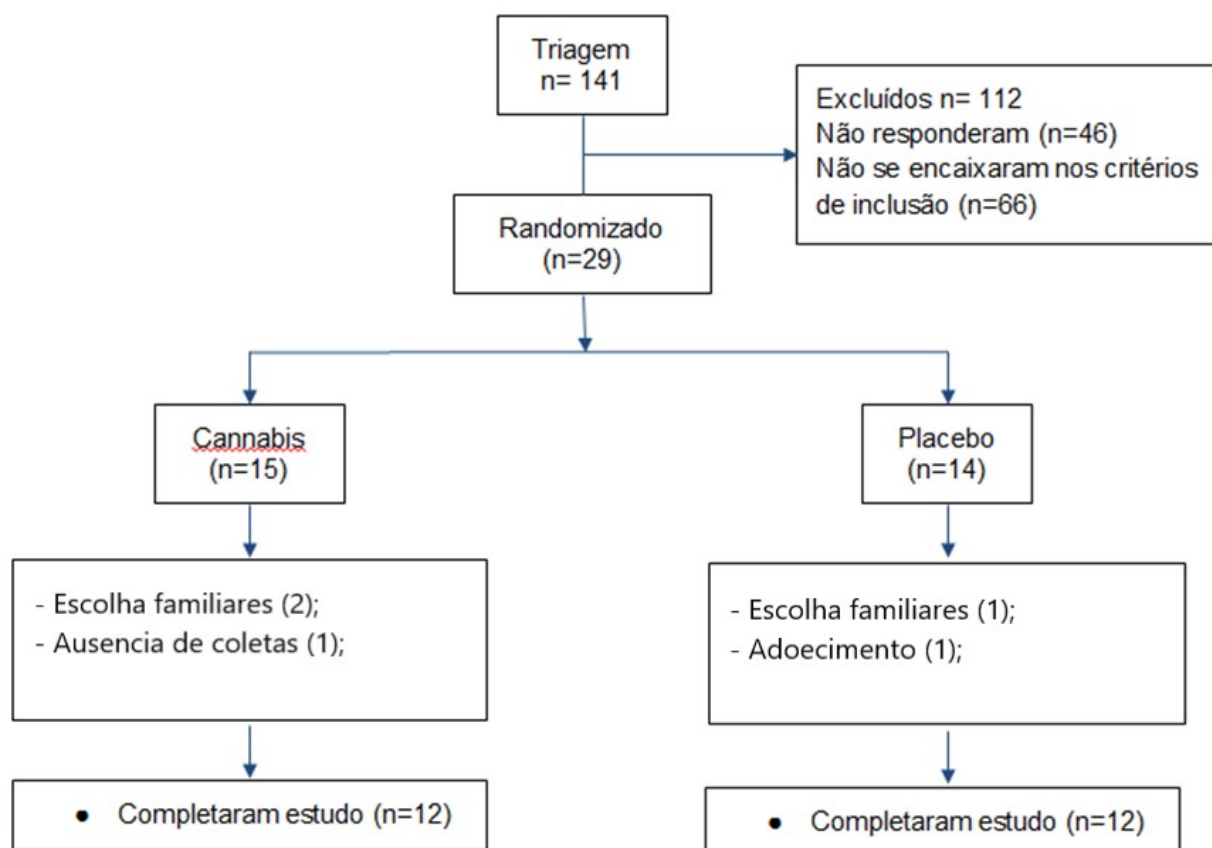
Encontra-se em anexo o documento Termo de consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (anexo 1) bem como o Parecer Consubstanciado (anexo 2).

O voluntário foi devidamente acompanhado pelos pesquisadores, estando o médico responsável de sobreaviso para atender o paciente se em qualquer momento do estudo, este reportar-se algum efeito adverso. Qualquer demanda ou atendimento médico-hospitalar referente ao tratamento que se fez necessário, não implicou em nenhuma cobrança, sendo custeado por verbas de pesquisa do projeto, pela universidade e pelo hospital onde foram realizadas as coletas de exame.

4. RESULTADOS

Na construção da amostra foram avaliados 141 participantes com suposto diagnóstico prévio da Doença de Alzheimer adquiridos por meio da convocação em redes sociais, emails, contatos diretos, entre outros. Dos 141, 113 foram excluídos devido aos critérios de inclusão e exclusão, restando 29 participantes para randomização. Devido ao período da pandemia, intercorrências como um diagnóstico diferencial dentro da DA, a escolha de familiares, o não comparecimento para coleta de dados e recebimento da intervenção bem como o desenvolvimento de AVC, acarretou a exclusão de cinco pacientes da análise estatística, restando 12 pacientes em cada grupo (Figura 1).

Figura 1. Fluxograma descrevendo da convocação a definição dos grupos de intervenção



Fonte: do autor, 2023.

Após a definição e randomização dos participantes nos grupos, pela análise pelo teste qui-quadrado bilateral (χ^2) para comparação de proporções e, do teste t de amostras independentes para comparação de médias, com $\alpha < 0,05$, obteve-se uma homogeneização dos grupos para as principais características epidemiológicas e sociodemográficas como: idade ($p=0,936$), sexo ($p=0,806$), raça ($p=0,310$), nível educacional ($p=0,596$) e ren-

da ($p=0,406$), bem como para os fatores relacionados à patologia como o estadiamento segundo o MEEM e a escala CDR ($p=0,658$ e $0,946$, respectivamente), tempo de diagnóstico ($p>0,999$), tabagismo e consumo de álcool ($p=0,226$ e $p=0,683$, respectivamente), tratamento prévio convencional ($p=0,245$) e escores no *base line* do MEEM, ADAS-cog e DSRS ($p=0,563$, $p=0,786$ e $p=0,150$, respectivamente) (Tabela 1 e Tabela 2).

Tabela 1. Características epidemiológicas, sociodemográficas

Variáveis	Placebo (N=12)	Cannabis (N=12)	Valor P
Idade (anos)	72.9±4.9	72.7±6.8	0.936
Sexo			0.806
Masculino	6 (50.0)	2 (20.0)	
Feminino	6 (50.0)	10 (80.0)	
Etnia†			0.310
Branco	11 (92.3)	11 (88.9)	
Preto	1 (7.7)	0 (0.0)	
Asiático	0 (0.0)	0 (0.0)	
Indígena	0 (0.0)	1 (11.1)	
Nível educacional‡			0.596
Fundamental incompleto	4 (30.8)	2 (22.2)	
Fundamental completo	4 (30.8)	3 (25.0)	
Ensino médio incompleto	0 (0.0)	0 (0.0)	
Ensino médio completo	2 (15.4)	2 (22.2)	
Superior incompleto	0 (0.0)	1 (11.1)	
Superior completo	1 (7.7)	2 (22.2)	
Pós-graduação completa	1 (7.7)	1 (11.1)	
Renda mensal(R\$)			0.406
Mais do que 1 salário mínimo	3 (25.0)	2 (22.2)	
1-2 salários mínimo	7 (58.3)	6 (66.7)	
2-7 salários mínimo	2 (16.7)	0 (0.0)	
>7 salários mínimo	0 (0.0)	1 (11.1)	
Tabagismo			0.226
Sim	4 (30.8)	4 (44.4)	
Não	8 (61.5)	2 (22.2)	
Fumante passivo	1 (7.7)	2 (22.2)	
Consumo de álcool			0.683
Sim	11 (84.6)	7 (77.8.)	
Não	2 (15.4)	2 (22.2)	

Fonte: do autor, 2023.

Legenda:

† Raça ou grupo étnico foi autorrelatado.

‡ Baseado no sistema educacional brasileiro.

§ Com base no salário mínimo brasileiro (aproximadamente R\$ 1166,29).

Nota explicativa: A análise pelo teste qui-quadrado (χ^2) bilateral foi realizada para comparações de proporções $P<0.05$ definido como nível de significância.

Tabela 2. Características clínicas e *baseline* dos pacientes

Variáveis	Placebo (N=12)	Cannabis (N=12)	Valor P
Classificação MEEM			0.658
leve	4 (30.8)	2 (22.2)	
Moderado	9 (69.2)	7 (77.8)	
Grave	0 (0.0)	0 (0.0)	
Tempo de diagnostico (anos)	3±1	3±1	>0.999
Estadiamento CDR			0.946
Nenhum	0 (0.0)	0 (0.0)	
Suspeito	1 (7.7)	1 (11.1)	
Leve	4 (30.8)	3 (33.3)	
Moderado	8 (61.5)	5 (55.6)	
Grave	0 (0.0)	0 (0.0)	
Terapia convencional			0.245
Apenas anticolinesterásicos	4 (30.8)	5 (55.6)	
Apenas Memantina	6 (46.2)	3 (33.3)	
Anticolinesterásicos e memantina	5 (38.5)	3 (33.3)	
Nenhum	2 (15.2)	3 (33.3)	
Escore MEEM	17±3	16±5	0.563
Escore ADAS-cog	27±8	26±9	0.786
Escore DSRS	22±5	25±4	0.150

Fonte: do autor, 2023.

4.1. Resultados clínicos

Na coleta de dados com o uso das ferramentas MEEM, ADAS-cog e DSRS em cada tempo, foi possível obter um escore para cada paciente de acordo com as semanas de tratamento até completar 26 semanas (seis meses). Já para a análise estatística trabalhou-se com um valor definido denominado delta, que é o valor do escore de cada paciente no respectivo tempo de tratamento subtraído o escore em T0 (*base line* - início do tratamento) (Tabela 4).

As tabelas abaixo apresentam os escores do MEEM (Tabela 3) bem como o os valores de delta calculado (Tabela 4) para cada participante e em cada tempo.

Com a análise de medidas repetidas de covariância (ANCOVA) - usada para avaliar as diferenças entre os grupos (grupo tratado e o grupo placebo) nas alterações modeladas da linha de base até a semana 26, com variável dependente a alteração delta em T6 e covariável o estadiamento segundo a escala CDR - foi possível obter como resultado no escore MEEM um valor de P para Grupo de 0,028, demonstrando diferença estatística significativa, com efeito de incremento cognitivo (Tabela 5).

Cabe ressaltar o valor de P para CDR (0,098) e a comparação de valor de dimensão de efeito (η^2), que em análise demonstra que a diferença é atribuída ao efeito de gru-

po (tratado e placebo) e não ao estadiamento da doença antes do início do tratamento (escala CDR).

Abaixo temos o gráfico do MEEM do comportamento dos grupos ao longo do tratamento segundo comparação da linha de base (figura 2). Apesar de identificar-se um efeito placebo, fica claro o declínio após 12^a semana de tratamento do grupo placebo ao valor do que seria esperado para evolução da doença (linha pontilhada), enquanto o grupo tratado mantém-se em uma curva de melhora distanciando-se significativamente, como demonstrado pela ANCOVA.

Na tabela 6 e 8 é possível observar os valores obtidos com o ADAS-cog e DSRS durante o ensaio clínico. Na tabela 7 e 9 são os valores delta calculados, respectivamente.

Tabela 3. Escore MEEM em cada momento de avaliação (T1: 4 semanas, T2: 8 semanas, T3: 12 semanas e T6: 24 semanas de tratamento)

Paciente	T0	T1	T2	T3	T6
p 1	22	22	21	23	22
p 2	16	23	22	21	18
p 3	19	17	19	16	18
p 4	14	13	12	10	11
p 5	13	17	20	18	15
p 6	13	12	15	13	13
p 7	22	20	22	24	19
p 8	19	21	23	20	18
p 9	13	13	12	11	11
p 10	12	12	10	18	9
p 11	17	17	18	23	16
p 12	13	8	9	11	10
Média	16,083	16,250	16,917	17,333	15,000
t 1	14	19	22	18	23
t 2	22	22	21	22	22
t 3	14	21	18	11	18
t 4	13	13	15	15	15
t 5	5	6	7	5	5
t 6	25	27	27	26	26
t 7	17	14	7	11	14
t 8	14	16	15	15	17
t 9	12	15	12	16	14
t 10	8	10	11	10	3
t 11	7	10	11	10	10
t 12	8	6	6	6	7
Média	13,250	14,917	14,333	13,750	14,500

Fonte: do autor, 2023.

Nota explicativa: p: grupo placebo, t: grupo tratado), quanto maior o valor melhor é desempenho cognitivo.

Tabela 4. Escore Delta do MEEM em cada momento de avaliação (Delta-T1: T1 – T0, Delta-T2: T2 – T0, Delta-T3: T3 – T0, Delta-T6: T6 – T0 / p: grupo placebo, t: grupo tratado), quanto maior o valor melhor é desempenho cognitivo

Paciente	Delta-T1	Delta-T2	Delta-T3	Delta-T6
p 1	0	-1	1	0
p 2	7	6	5	2
p 3	-2	0	-3	-1
p 4	-1	-2	-4	-3
p 5	4	7	5	2
p 6	-1	2	0	0
p 7	-2	0	2	-3
p 8	2	4	1	-1
p 9	0	-1	-2	-2
p 10	0	-2	6	-3
p 11	0	1	6	-1
p 12	-5	-4	-2	-3
Média	0,167	0,833	1,250	-1,083
t 1	5	8	4	9
t 2	0	-1	0	0
t 3	7	4	-3	4
t 4	0	2	2	2
t 5	1	2	0	0
t 6	2	2	1	1
t 7	-3	-10	-6	-3
t 8	2	1	1	3
t 9	3	0	4	2
t 10	2	3	2	-5
t 11	3	4	3	3
t 12	-2	-2	-2	-1
Média	1,667	1,083	0,500	1,250

Fonte: do autor, 2023.

Tabela 5. Análise de covariância na diferença entre grupo placebo e grupo tratado para o MEEM – ANCOVA

Estatística descritiva	GRUPO		DELTA	Desvio-padrão		
Média	PLACEBO		-1.08	± 1.83		
	TRATADO		1.25	± 3.57		

ANCOVA	Soma de Quadrados	gl	Quadrado médio	F	p	η²
GRUPO	40.9	1	40.89	5.54	0.028	0.188
CDR	22.1	1	22.11	2.99	0.098	0.101
Resíduos	155.1	21	7.38			

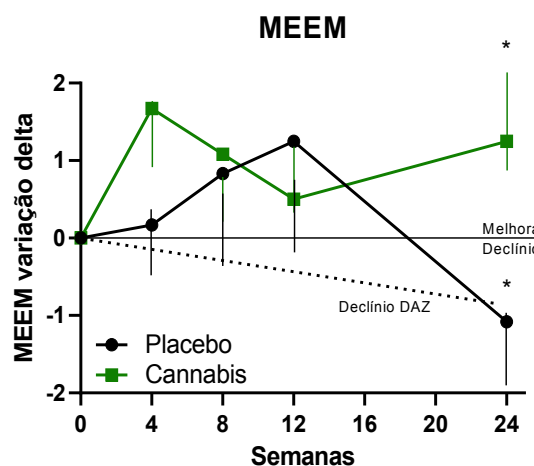
Comparações Post Hoc - GRUPO							
		Comparação					
GRUPO		GRUPO	Dife- rença Média	Erro- padrão	gl	t	p_{tukey}
PLACEBO	-	TRATADO	-2.64	1.12	21.0	-2.35	0.028

Teste à Homogeneidade de Variâncias (Levene)			
F	gl1	gl2	p
3.21	1	22	0.087

Teste à Normalidade (Shapiro-Wilk)	
Estatística	p
0.983	0.942

Fonte: do autor, 2023.

Gráfico 1. Gráfico das médias dos deltas calculados para o grupo placebo e tratado para o MEEM em cada tempo de tratamento em semanas



Fonte: do autor, 2023.

Tabela 6. Escore ADAS-cog em cada momento de avaliação (T1: 4 semanas, T2: 8 semanas, T3: 12 semanas e T6: 24 semanas de tratamento)

Paciente	T0	T1	T2	T3	T6
p 1	18	21	21	13	20
p 2	20	24	18	20	25
p 3	35	24,9	28	21	27
p 4	23	42	47	45	43
p 5	41	20	22	24	24
p 6	51	43	41	43	50
p 7	18	13	18	17	19
p 8	25	22	22	23	21
p 9	36	36	36	36	43
p 10	33	32	30	38	50
p 11	19	16	18	17	16
p 12	32	47	47	47	51
Média	29,250	28,408	29,000	28,667	32,417
t 1	20	22	21	17	23
t 2	21	21	24	18	15
t 3	35	39	23	57	22
t 4	18	26	24	31	34
t 5	66	65	64	66	64
t 6	12	7	8	9	9
t 7	31	29	27	31	34
t 8	32	27	29	28	25
t 9	24	26	31	29	36
t 10	44	55	46	52	62
t 11	56	52	51	61	59
t 12	52	51	42	52	56
Média	34,250	35,000	32,500	37,583	36,583

Fonte: do autor, 2023.

Legenda: p: grupo placebo, t: grupo tratado.

Nota explicativa: quanto menor o valor melhor é desempenho cognitivo.

Tabela 7. Escore Delta do ADAS-cog em cada momento de avaliação (Delta-T1: T1 – T0, Delta-T2: T2 – T0, Delta-T3: T3 – T0, Delta-T6: T6 – T0)

Paciente	Delta-T1	Delta-T2	Delta-T3	Delta-T6
p 1	3	3	-5	2
p 2	4	-2	0	5
p 3	-10,1	-7	-14	-8
p 4	19	24	22	20
p 5	-21	-19	-17	-17
p 6	-8	-10	-8	-1
p 7	-5	0	-1	1
p 8	-3	-3	-2	-4
p 9	0	0	0	7
p 10	-1	-3	5	17
p 11	-3	-1	-2	-3
p 12	15	15	15	19
Média	-0,842	-0,250	-0,583	3,167
t 1	2	1	-3	3
t 2	0	3	-3	-6
t 3	4	-12	22	-13
t 4	8	6	13	16
t 5	-1	-2	0	-2
t 6	-5	-4	-3	-3
t 7	-2	-4	0	3
t 8	-5	-3	-4	-7
t 9	2	7	5	12
t 10	11	2	8	18
t 11	-4	-5	5	3
t 12	-1	-10	0	4
Média	0,750	-1,750	3,333	2,333

Fonte: do autor, 2023.

Legenda: p: grupo placebo, t: grupo tratado).

Nota explicativa: quanto menor o valor melhor é desempenho cognitivo.

Tabela 8. Escore DSRS em cada momento de avaliação (T1: 4 semanas, T2: 8 semanas, T3: 12 semanas e T6: 24 semanas de tratamento)

Paciente	T0	T1	T2	T3	T6
p 1	22	10	12	15	17
p 2	24	20	16	14	19
p 3	22	21	22	24	22
p 4	29	34	35	32	35
p 5	28	20	20	25	22
p 6	28	28	29	27	27
p 7	18	7	12	22	21
p 8	18	17	18	18	18
p 9	23	22	18	21	21
p 10	27	22	26	32	40
p 11	15	21	15	12	16
p 12	27	30	30	28	32
Média	23,417	21,000	21,083	22,500	24,167
t 1	16	14	15	17	15
t 2	28	23	20	30	16
t 3	22	20	24	30	21
t 4	29	27	24	30	35
t 5	38	38	37	40	42
t 6	26	30	17	23	24
t 7	27	23	27	34	27
t 8	24	18	18	21	24
t 9	27	27	24	19	20
t 10	33	35	41	33	46
t 11	31	39	38	37	34
t 12	22	22	23	28	26
Média	26,917	26,333	25,667	28,500	27,500

Fonte: do autor, 2023.

Legenda: p: grupo placebo, t: grupo tratado).

Nota explicativa: quanto menor o valor melhor é desempenho cognitivo.

Tabela 9. Escore Delta do DSRS em cada momento de avaliação (Delta-T1: T1 – T0, Delta-T2: T2 – T0, Delta-T3: T3 – T0, Delta-T6: T6 – T0 / p: grupo placebo

Paciente	Delta-T1	Delta-T2	Delta-T3	Delta-T6
p 1	-12	-10	-7	-5
p 2	-4	-8	-10	-5
p 3	-1	0	2	0
p 4	5	6	3	6
p 5	-8	-8	-3	-6
p 6	0	1	-1	-1
p 7	-11	-6	4	3
p 8	-1	0	0	0
p 9	-1	-5	-2	-2
p 10	-5	-1	5	13
p 11	6	0	-3	1
p 12	3	3	1	5
Média	-2,417	-2,333	-0,917	0,750
t 1	-2	-1	1	-1
t 2	-5	-8	2	-12
t 3	-2	2	8	-1
t 4	-2	-5	1	6
t 5	0	-1	2	4
t 6	4	-9	-3	-2
t 7	-4	0	7	0
t 8	-6	-6	-3	0
t 9	0	-3	-8	-7
t 10	2	8	0	13
t 11	8	7	6	3
t 12	0	1	6	4
Média	-0,583	-1,250	1,583	0,583

Fonte: do autor, 2023.

Legenda: t: grupo tratado).

Nota explicativa: quanto menor o valor melhor é desempenho cognitivo.

Nestas ferramentas, a análise pelo ANCOVA, também com variável dependente a alteração delta em T6 e covariável o estadiamento segundo a escala CDR, buscando a comparação entre grupo tratado e placebo, não foi evidenciado diferença estatística significativa entre eles (Tabela 10).

Tabela 10. Análise de covariância na diferença entre grupo placebo e grupo tratado para o ADAS-cog e DSRS – ANCOVA

ANCOVA - DELTA - ADAS-cog	Soma de Quadrados	gl	Quadrado médio	F	p
GRUPO	3.8907	1	3.8907	0.0347	0.854
CDR	0.0702	1	0.0702	6.25e-4	0.980
Resíduos	2356.2632	21	112.2030		

ANCOVA - DELTA - DSRS	Soma de Quadrados	gl	Quadrado médio	F	p
GRUPO	4.02	1	4.02	0.127	0.725
CDR	100.00	1	100.00	3.157	0.090
Resíduos	665.16	21	31.67		

Fonte: do autor, 2023.

4.2. Resultados da análise bioquímica do líquido

Na análise bioquímica do líquido pela quantificação de Tau total e BDNF das coletas realizadas em T0 e T6, foi possível obter os valores pelo método ELISA demonstrados na tabela 11 e 12 (Tau total e BDNF).

Após análise pelo ANOVA de medidas repetidas de dois critérios não foi possível identificar diferença estatística significativa entre os tempos de tratamento (T0 e T6), assim como entre os grupos (tratado e placebo) para Tau total ($p=0,766$) (Tabela 13), a figura 3 mostra o gráfico da análise.

Tabela 11. Valores de absorvência pelo método Elisa de TAU total (p: grupo placebo, t: grupo tratado/ T0 antes do tratamento, T6: 24 semanas de tratamento)

Paciente	T0	T6
p 1	0,44	0,464
p 2	0,444	0,511
p 3	0,415	0,522
p 4	0,387	0,439
p 5	0,493	0,54
p 6	0,574	0,474
p 7	0,302	0,367
p 8	0,277	0,323
p 9	0,322	0,424
p 10	0,368	0,298
p 11	0,313	0,305
p 12	0,359	0,293
Média	0,391	0,413
t 1	0,347	0,592
t 2	0,445	0,435
t 3	0,504	0,451
t 4	0,553	0,521
t 5	0,541	0,447
t 6	0,403	0,349
t 7	0,292	0,349
t 8	0,335	0,336
t 9	0,251	0,336
t 10	0,379	0,396
t 11	0,298	0,268
Média	0,395	0,408

Fonte: do autor, 2023.

Tabela 12. Valores de absorbância pelo método Elisa de BDNF (p: grupo placebo, t: grupo tratado/ T0 antes do tratamento, T6: 24 semanas de tratamento)

Paciente	T0	T6
p 1	0,005	0,077
p 2	0,062	0,105
p 3	0,072	0,095
p 4	-0,047	0,034
p 5	-0,026	0,11
p 6	-0,078	0,053
p 7	0,033	0,019
p 8	-0,009	-0,081
p 9	-0,01	0,065
p 10	-0,007	0,014
p 11	0,037	0,037
p 12	-0,077	-0,01
Média	-0,004	0,043
t 1	-0,003	0,079
t 2	-0,015	0,093
t 3	-0,005	0,046
t 4	-0,006	0,128
t 5	0,006	0,092
t 6	-0,002	0,017
t 7	-0,07	-0,023
t 8	-0,01	0,009
t 9	-0,052	0,011
t 10	-0,008	-0,063
t 11	0,007	0,049
Média	-0,013	0,040

Fonte: do autor, 2023.

Tabela 13. ANOVA de medidas repetidas 2 critérios para Tau total (tempo de tratamento: T0 e T6), (intervenção: tratado e placebo)

Efeito Intra-Sujeitos	Soma de Quadrados	gl	Quadrado médio	F	p
Tempo de tratamento	0.00335	1	0.00335	1.0241	0.323
Tempo de tratamento * Intervenção	2.97e-4	1	2.97e-4	0.0907	0.766
Residual	0.06869	21	0.00327		

Efeito Inter-Sujeitos	Soma de Quadrados	gl	Quadrado médio	F	p
Intervenção	1.10e-5	1	1.10e-5	7.57e-4	0.978
Residual	0.304	21	0.0145		

Fonte: do autor, 2023.

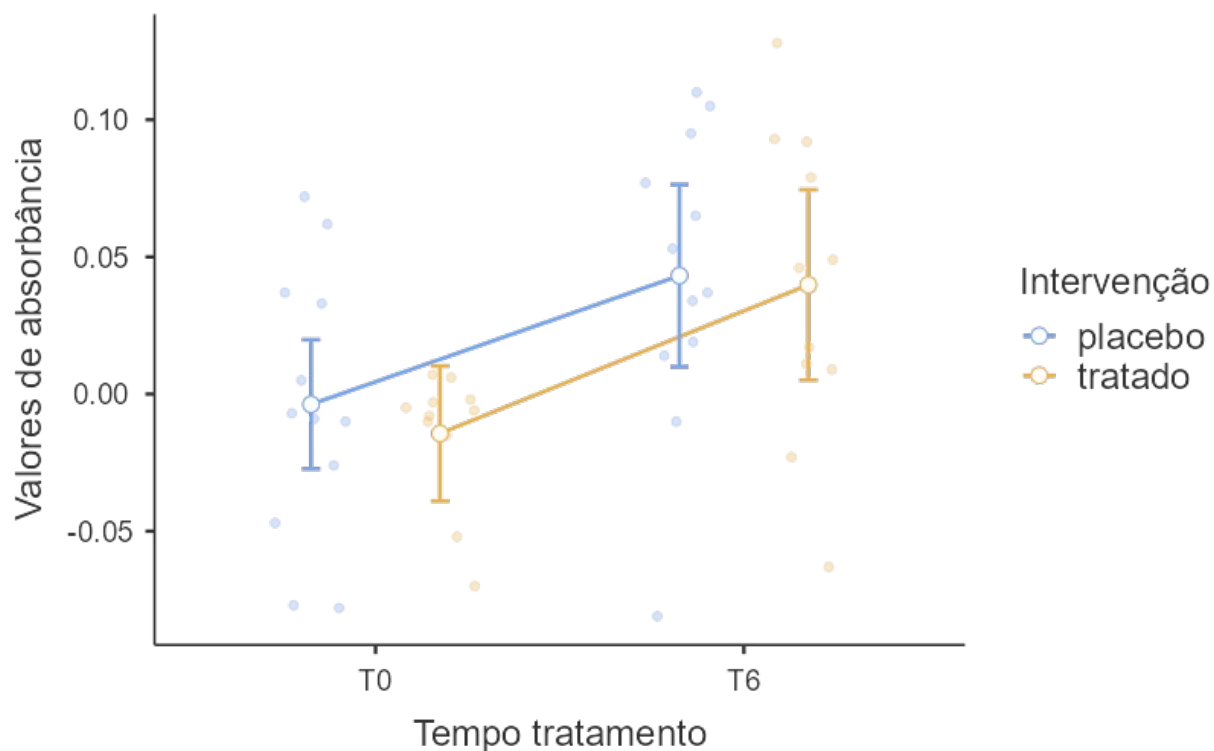
Tabela 14. ANOVA de medidas repetidas 2 critérios para BDNF (tempo de tratamento: T0 e T6), (intervenção: tratado e placebo)

Efeito Intra-Sujeitos	Soma de Quadrados	gl	Quadrado médio	F	p
Tempo tratamento	0.0293	1	0.02933	18.9402	< .001
Tempo tratamento * Intervenção	1.51e-4	1	1.51e-4	0.0978	0.758
Residual	0.0325	21	0.00155		

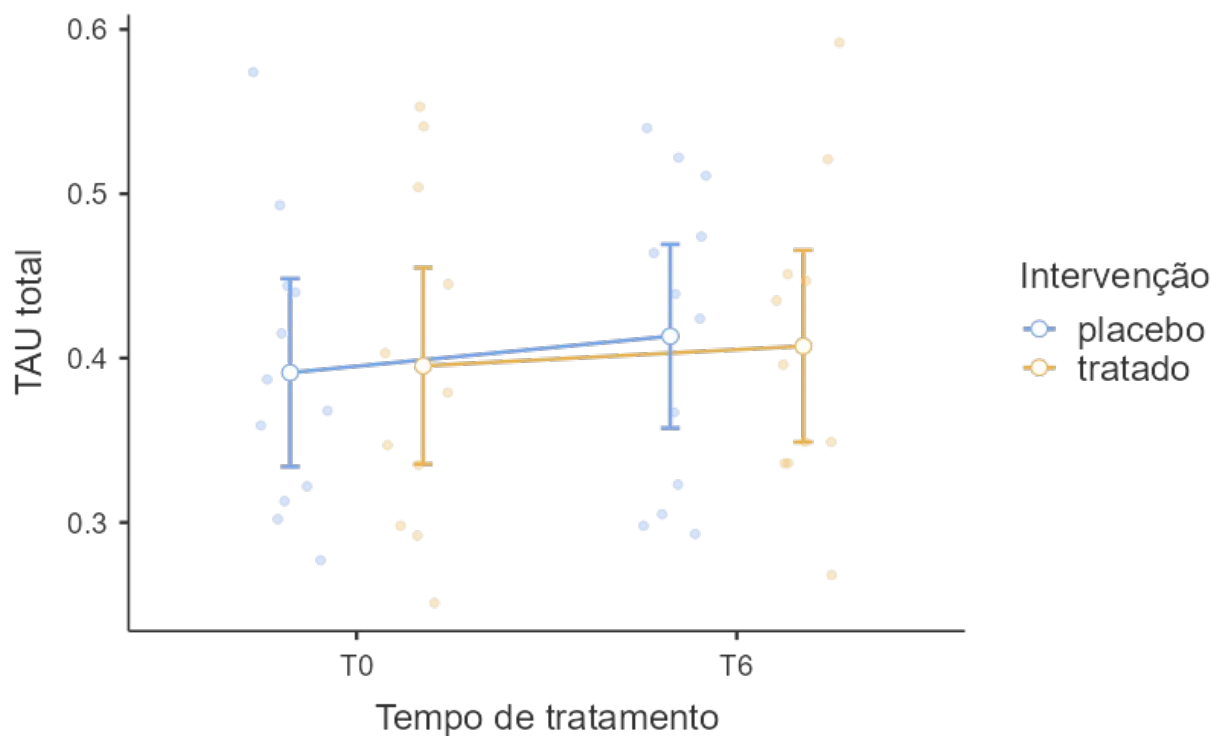
Efeito Inter-Sujeitos	Soma de Quadrados	gl	Quadrado médio	F	p
Intervenção	5.59e-4	1	5.59e-4	0.183	0.673
Residual	0.0641	21	0.00305		

Fonte: do autor, 2023.

Ao observar o BDNF na tabela 14 podemos evidenciar o valor de p para o tempo de tratamento apresentando diferença estatística significativa ($p < 0,01$), entretanto isto ocorreu para os dois grupos, não apresentando diferença entre eles ($p = 0,758$). Abaixo temos os gráficos 2 e 3 demonstrando os resultados em T0 e T6.

Gráfico 2. Gráfico dos valores de absorbância para BDNF pelo método ELISA do grupo placebo e tratado

Fonte: do autor, 2023.

Gráfico 3. Gráfico dos valores de absorbância para Tau total pelo método ELISA do grupo placebo e tratado

Fonte: do autor, 2023.

4.3. Aspectos éticos

Cabe ressaltar que, respeitando os princípios éticos e como acordado com o CEP que aprovou a pesquisa, foi realizado uma pré-avaliação dos dados a partir de 90 dias (três meses), para identificar se já havia alguma evidência de diferença estatística significativa no desfecho primário (MMSE) entre os dois grupos (grupo 1 e o grupo controle/placebo) que representasse uma melhora clínica na condição da doença. Como não foi confirmado tal fenômeno, foi mantido o controle e cegamento durante os seis meses de desenvolvimento da pesquisa, respeitando desse modo os princípios éticos de pesquisa com seres humanos.

4.4. Efeitos adversos

Os efeitos adversos mais comuns observados foram: aumento do apetite, confusões mentais, desorientação, diarreia, perda de equilíbrio, sonolência e vômito.

Mais de 5% dos pacientes apresentaram algum desses sintomas durante o tratamento, porém majoritariamente com intensidade leve. Efeitos adversos graves como crises epilépticas, alterações laboratoriais em exames de rotina, não foram observados em momento algum durante o estudo.

Dos efeitos considerados adversos a maioria dos cuidadores relatou não acreditar que este efeito adverso estivesse diretamente relacionado com a medicação pois já existiam antes do tratamento e não pioraram de intensidade. A tabela 15 mostra as frequências (%) e a intensidade dos efeitos adversos relatados durante o estudo.

Tabela 15. Efeitos adversos relatados durante o tratamento

SINTOMA	FREQUÊNCIA EM CADA INTENSIDADE (%)		
	Leve	Moderado	Grave
Alucinação	2%	1%	2%
Ansiedade	7%	6%	2%
Astenia	2%	3%	1%
Aumento do apetite	9%	4%	1%
Aumento do peso	5%	4%	0
Boca seca	6%	3%	0
Cefaleia	5%	1%	0
Convulsões	0	0	0
Confusões Mentais	8%	5%	1%
Depressão	5%	3%	1%
Desorientação	6%	2%	2%
Diarréia	6%	2%	1%
Dispnéia	2%	0	0
Euforia	5%	2%	0
Fadiga	2%	5%	0
Náusea	3%	2%	1%
Paranóia e/ou psicoses	1%	1%	2%
Perda de equilíbrio	9%	2%	1%
Sonolência	6%	3%	1%
Vômito	1%	1%	0
Efeitos endócrinos e metabólicos	1%	0	0
Alterações laboratoriais	0	0	0
Efeitos cardiocirculatórios	1%	1%	1%
Efeitos dermatológicos	2%	1%	0
Infecções	2%	0	0

Fonte: do autor, 2023.

5. DISCUSSÃO

Neste ensaio clínico foi possível demonstrar a diferença estatística encontrada na escala MEEM e observar a diferença no padrão na evolução clínica entre os pacientes do grupo placebo e do grupo tratado com Cannabis. A pontuação do MMSE do grupo placebo reduziu em 1,1 e a pontuação do MMSE do grupo Cannabis aumentou em 2, o que representa uma diferença de 3 entre os grupos.

Apesar de Schneider; Sano, 2009, afirmarem a falta de ferramentas de análise que permitam dados confiáveis a respeito de fármacos que atuem na progressão da DA, um ensaio clínico, randomizado, duplo cego, controlado por placebo traz a confiabilidade pela construção do método, sendo considerado o padrão ouro para este tipo de investigação. A evidência levantada neste trabalho corrobora com inúmeras outras desde as descobertas dos fitocannabinóides e do SEC.

Abaixo, podemos enumerar algumas evidências pré-clínicas que embasam e justificam esta investigação e estes resultados.

5.1. Evidências pré-clínicas

Nas doenças neurodegenerativas considera-se o eixo central tanto na fisiopatologia como para o desenvolvimento de tratamento o processo de neuroinflamação, cujas células envolvidas são os astrócitos e a micróglia, bem como linfócitos, monócitos e macrófagos (MINGUETI, 2005).

A partir dos mecanismos patogênicos na DA, inicia-se uma ativação dessas células que culminam na liberação de inúmeras citocinas e interleucinas pró-inflamatórias, a ativação excessiva e liberação de glutamato pelos neurônios, o aumento de EROs e ERNs, levando a uma disfunção mitocondrial e, por fim, apoptose (PICANÇO *et al.*, 2018; KUMAR *et al.*, 2018). Mingueti, 2005, aborda a noção de que nas doenças neurológicas este processo possui um caráter crônico, sustentado ao longo do envelhecimento, cujos mecanismos patogênicos descritos anteriormente garantem o caráter progressivo de neurônio a neurônio.

Evidências apontam que o sistema endocanabinóide atua na regulação em várias funções neurológicas como no metabolismo do Ca²⁺, no metabolismo neuronal, na neurotransmissão e na resposta inflamatória cerebral (HOWLLET, 2002; ZHUANG *et al.*, 2005; DONG *et al.*, 2009; MARCHALANT *et al.*, 2009; HOWLLET; BLUME; DALTON,

2010).

Na inflamação os canabinóides já demonstraram efeitos na redução da ativação microglial, da redução de IL-6, IL-1B e TNF-alfa (MARCHALANT *et al.*, 2009). No estresse oxidativo, os canabinóides já mostraram reduzir a despolarização mitocondrial, a peroxidação lipídica (ASO *et al.*, 2013), além de evidência de aumento do dano oxidativo em rato knockout CB1 (KIM *et al.*, 2005).

Na excitotoxicidade, a atuação relaciona-se com a redução de liberação de glutamato na fenda sináptica, a diminuição da toxicidade por NMDA e diminuição da liberação intracelular de Ca²⁺ (WANG, 2003; KIM *et al.*, 2006a). Além disso, há efeitos no aumento da expressão de neurotrofinas como fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e bFGF, aumento da neurogênese, acompanhados de evidências de redução na neurogênese por diminuição de 2-AG e em ratos knockout CB1 (KIM *et al.*, 2006b; DE MARCH *et al.*, 2008; GAO *et al.*, 2010; BILKEI-GORZO *et al.*, 2017).

Análises *post-mortem* de tecidos das porções frontais e temporais corticais demonstraram níveis diminuídos de AEA e seu precursor e uma correlação inversa com os níveis de BA 42 (IWATSUBO *et al.*, 1994; JUNG *et al.*, 2012). Benito, 2003, evidencia aumento na FAAH em torno das placas amilóides. Já Tólon e colaboradores (2009), evidenciam que a ativação de CB2 em macrófagos da linhagem THP-1 induz a remoção de BA em tecidos humanos neuronais congelados.

Aso *et al.*, 2013, evidencia a ação de um agonista do receptor CB2 produzindo efeitos benéficos no processo neuroinflamatório, estresse oxidativo, fosforilação da Tau e desempenho da memória em um modelo de camundongo com DA transgênico.

Fato corroborado por Aso e Ferrer, 2016, que demonstram que a ativação de receptores CB2 reduzem a formação de placas β -amilóides, promovem a captação de glicose no cérebro e diminui a oxidação das proteínas Tau, apresentando assim um grande potencial para o tratamento da Doença de Alzheimer.

Iniciado esta discussão, a compreensão dos mecanismos neuromoduladores e imunomoduladores envolvidos nos processos fisiológicos e patológicos (OLIVEIRA, 2009; RUSSO, 2018) traz a vista evidências da atividade endocanabinóide e sua associação com o envelhecimento, sugerindo fortemente seu envolvimento na patogenia e progressão das doenças neurodegenerativas, como a DA (BILKEY-GORZO, 2012; DI MARZO *et al.*, 2015).

Recentemente, foi demonstrado em modelos animais que a redução da expressão de CB2 gera uma expressão exacerbada de BA cortical e níveis de BA40 solúvel aumen-

tados, entretanto, sem o comprometimento da memória, além de não modificar a hiperfosforilação da proteína Tau e não diminuir o incremento positivo na cognição promovido pela administração dos canabinóides (ASO *et al.*, 2016; LÓPEZ *et al.*, 2018).

Ramirez *et al.*, 2005, já demonstrara que as placas senis em pacientes com DA expressam os receptores canabinóides CB1 e CB2, juntamente com marcadores de ativação microglial; e que os neurônios CB1-positivos presentes em grande número nos casos de controle são muito reduzidos nas áreas de ativação microglial.

A análise das placas BA em cérebros humanos com DA mostrou expressão de CB1 e CB2 juntamente com marcadores de ativação microglial. Além disso, demonstraram também que, em relação aos ratos jovens, nos ratos velhos o acoplamento da proteína G e a expressão da proteína do receptor CB1 estão marcadamente diminuídos em cérebros com DA (RAMIREZ *et al.*, 2005).

São evidências em modelos *in vitro* e *vivo* a comprovação da causalidade do tratamento com canabinóides com o uso de bloqueadores dos receptores, principalmente CB1, e uso de camundongos *knockout* para o mesmo, que não só impediu eficácia demonstrada dos tratamentos, mas também induziu respostas citotóxicas e inflamatórias, bem como déficits nos testes comportamentais (CURRAIS *et al.*, 2016; BILKEY-GORZO, 2017).

Mais recentemente, Bilkey-Gorzo *et al.*, 2017, demonstraram efeitos benéficos com o tratamento com baixas doses de THC em camundongos idosos e jovens realizando uma comparação entre eles. Por meio de 3mg/kg/dia de THC ou veículo (controles) por 28 dias, demonstrou significativamente melhorias cognitivas, aumento de expressão de proteínas sinápticas, aumento na densidade hipocampal, restauração de padrão de transcrição gênica hipocampal, bem como relação causal com a atuação do receptor CB1 ao comparar com camundongos *knockout* para este receptor.

Um fato interessante é que nas diferentes metodologias de análise aplicadas, as melhorias que os ratos velhos apresentaram são equiparáveis aos resultados dos ratos jovens, considerando que o tratamento não causou alteração nos jovens. Neste trabalho, foi investigado o efeito do THC na densidade sináptica do hipocampo, analisaram sinapsina I, sinaptofisina, proteína de densidade pós-sináptica (PSD 95), estabeleceram o perfil de expressão gênica do hipocampo, analisando o enriquecimento de genes ontológicos associados com morfogênese, homeostase, expressão gênica, fosforilação e transmissão do impulso nervoso, demonstrando que ocorre um “upregulation” em genes como Klotho (KI), Transthyretin (Ttr) e do BDNF, enquanto que ocorreu um “downregulation” nos genes

Caspase-1 e Connective tissue grow factor (Ctgf), demonstrando um envolvimento dos canabinóides na expressão gênica destes fatores (BILKEY-GORZO *et al.*, 2017).

O uso de extratos com CBD e THC apresentou melhores resultados do que extratos ricos em THC e CBD isoladamente em modelos de camundongos transgênicos A β PP/PS1 (ASO *et al.*, 2015). Aso *et al.*, 2015, evidenciou que o extrato rico em THC + CBD reduziu o comprometimento da aprendizagem, diminuiu significativamente os níveis do peptídeo BA42 solúvel e causou uma alteração na composição das placas, reduziu a astrogliose, microgliose e alterações relacionadas à inflamação. Além disso, o tratamento com canabinóides foi eficiente no bloqueio da proteólise neuronal de BA, bem como na neuroinflamação induzida por BA (CURRAIS *et al.*, 2016).

Em um cenário recente, os canabinóides têm sido descritos como moduladores de células gliais (RODRIGUEZ *et al.*, 2001; NAVARRETE; ARAQUE, 2008; STELLA, 2010; DUARTE *et al.*, 2012; LÓPEZ *et al.*, 2018). Estas células são cruciais para o início e manutenção do processo inflamatório, sendo por sua vez essenciais para a progressão da DA, em linhas gerais, as células gliais produzem e liberam endocanabinóides em resposta ao estresse (MCEWEN *et al.*, 2015).

A relação entre sistema endocanabinóide e neuroinflamação reside no fato de estudos apresentarem a localização dos receptores CB2 e CB1 nas células neuronais e da glia, mas principalmente o CB2 em células da microglia, cuja relação mais específica reside em evidências do aumento da expressão deste receptor nestas células que envolvem as placas senis ou BA (RAMIREZ *et al.*, 2005).

As micróglia têm ocupado lugar central nas discussões, uma vez que estas células atuam na neuroinflamação através de dois estados de ativação, denominados M1 e M2. No estado M1 a micróglia possui um estado pró-inflamatório, liberando moléculas citotóxicas, incluindo óxido nítrico (NO), ânion superóxido, ácido araquidônico e citocinas pró-inflamatórias, como fator de tumor necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β) ou IL-6; já no estado M2, seu caráter é restaurador, regenerador, anti-inflamatório liberando IL-4 e IL-10, interleucinas anti-inflamatórias (WAKSMAN *et al.*, 1999; RAMIREZ *et al.*, 2005; FATTORE, 2015; LÓPEZ; *et al.*, 2018).

Canabinóides alteram a função microglial, inibem a produção e liberação de citocinas, previnem a ativação microglial e diminuem a produção de NO, diminuem a liberação e a expressão de TNF- α , aumentam a atividade migratória, sendo isto correlacionado como fator favorável ao processo inflamatório (WAKSMAN *et al.*, 1999; PUFFENBARGER *et al.*, 2000; FACCHINETTI *et al.*, 2003). Em contrapartida, os canabinóides não tiveram

nenhum efeito na proliferação e fagocitose em modelos *in vitro* de células N13 (LÓPEZ *et al.*, 2018).

Há evidências de que canabinóides podem reduzir a liberação de ROS e citocinas pró-inflamatórias, bem como aumentar a liberação de IL-6, uma interleucina anti-inflamatória por astrócitos via CB1 e CB2 (MOLINA-HOLGADO *et al.*, 1997; MOLINA-HOLGADO *et al.*, 2002; SHENG *et al.*, 2005).

Da mesma forma, um estudo mostrou que canabinóides exógenos ou endógenos impediram o perfil pró-inflamatório induzido por BA em astrócitos, o que, por sua vez, contribuiu para a diminuição da morte neuronal (GAJARDO-GOMEZ *et al.*, 2017).

Fakhfouri *et al.*, 2012, em seu estudo, demonstra que a injeção intracerebroventricular de um agonista canabinóide sintético impedia a ativação da micróglia induzida pela BA e a produção de TNF, assim como mostrava atividade anti-oxidante no cérebro.

Evidências em modelo *in vitro* tem sugerido que diminuição da resposta inflamatória, do estresse oxidativo e a diminuição da acumulação de BA com uso de canabinóides reduz a hiperfosforilação da PT e sua acumulação via inibição de GSK-3 β (ESPOSITO *et al.*, 2006; ALALI *et al.*, 2021).

Também há evidências do aumento de BDNF por administração de canabinóides, bem como o aumento da expressão gênica hipocampal, muito provavelmente pela atuação do receptor CB1 (DE MARCH *et al.*, 2008; BILKEY-GORZO *et al.*, 2017).

Dessa forma, cogitar os canabinóides como uma possibilidade de tratamento para a patologia já possui um conjunto de evidências que embasam a realização de ensaios clínicos para esta investigação. Atualmente há poucas evidências dos efeitos de canabinóides e a DA, apesar disso, com as evidências acima demonstradas, isto já é cogitado por pesquisadores no ramo dos canabinóides (VAN DEN ELSEN *et al.* 2015; SHELEF *et al.*, 2016). Resumidamente na tabela 16 estão algumas das evidências citadas sobre a atuação dos canabinóides.

Tabela 16. Evidências da atuação dos canabinoides em processos fisiopatológicos da DA

Redução de porções BA intracelulares (RAMIREZ <i>et al.</i> , 2005; CURRAIS <i>et al.</i> , 2016).
Redução de placas BA e emaranhados neurofibrilares (RAMIREZ <i>et al.</i> , 2005; MARTÍN-MORENO <i>et al.</i> , 2012; ASO <i>et al.</i> , 2015; Aso; Ferrer, 2016; CURRAIS <i>et al.</i> , 2016).
Redução da neuroinflamação e estresse oxidativo (RAMIREZ <i>et al.</i> , 2005; FERNÁNDEZ-RUIZ <i>et al.</i> , 2011; FAKHFOURi <i>et al.</i> , 2012; MARTÍN-MORENO <i>et al.</i> , 2012; ASO <i>et al.</i> , 2015; CURRAIS <i>et al.</i> , 2016).
Redução da morte neuronal (CURRAIS <i>et al.</i> , 2016).
Diminuição da resposta inflamatória e do estresse oxidativo (RAMIREZ <i>et al.</i> , 2005; FERNÁNDEZ-RUIZ <i>et al.</i> , 2011; MARTÍN-MORENO <i>et al.</i> , 2012; FERNÁNDEZ-RUIZ <i>et al.</i> , 2013; ASO <i>et al.</i> , 2015; CURRAIS <i>et al.</i> , 2016).
Aumento de neurotrofinas (BDNF e outras) (SARNE <i>et al.</i> , 2017; FISHBEIN <i>et al.</i> , 2012; BILKEY-GORZO <i>et al.</i> , 2017; SULIMAN <i>et al.</i> , 2018;).
Aumento de proteínas sinápticas (BILKEY-GORZO <i>et al.</i> , 2017).
Aumento de proteínas axonais (BILKEY-GORZO <i>et al.</i> , 2017).
Aumento de citocinas anti-inflamatórias (FERNÁNDEZ-RUIZ <i>et al.</i> , 2011; FERNÁNDEZ-RUIZ <i>et al.</i> , 2013; CURRAIS <i>et al.</i> , 2016; ASO E FERRER, 2016).
Aumento de marcadores funcionais e de reprodutibilidade celular neuronal (SULIMAN <i>et al.</i> , 2018).

Fonte: do autor, 2023.

5.2. Tratamentos e considerações clínicas

Considerando os processos neuromoleculares e imunológicos que envolve a DA, e os resultados das propostas terapêuticas atuais já inseridas na prática clínica, as principais frentes por buscas de novos tratamentos para a DA hoje buscam atuar em alvos terapêuticos mais específicos na formação de BA e da hiperfosforilação de PT, na perspectiva de evitar a evolução da patologia (CAVAZZONI, 2021; DECOURT; BOUMELHEM; POPE, 2021; HOY, 2023; MONTEIRO *et al.*, 2023).

Cabe ressaltar que devido a muitas constatações a respeito da patologia, seus diferentes estágios e fenótipos, toda a conduta visa um tratamento multifatorial e complementar, na busca além de mitigar os sintomas, retardar o curso da doença, o que nos obriga a pensar diagnósticos precoces e tratamento em estágios iniciais, uma vez que quando o paciente já apresenta sintomas, próximo de 90% das vias colinérgicas já estão degeneradas (LUNARDI, 2010; HANE *et al.*, 2017; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023).

Estudos analisam o efeito de diferentes fármacos como os inibidores das gama e beta secretases na perspectiva de atuar na produção direta de porções BA, de fármacos como thioflavin T ou inibidores da GSK-3beta atuando no processo de formação dos aglomerados tanto BA como de PT, o uso de inibidores da BA álcool desidrogenase de liga-

ção a peptídeos (ABAD) na cascata de interação de BA com mitocôndria e função neuronal e, os anticorpos anti BA por meio da imunoterapia (FORLENZA, 2005; HANE *et al.*, 2017; PICANÇO *et al.*, 2018; KHAM *et al.*, 2018).

O tratamento da DA é realizado com objetivo de reduzir os efeitos da progressão dos sintomas, proporcionando uma melhora na qualidade de vida dos pacientes. Entretanto, até o momento não existe farmacoterapia eficaz para esta doença, sendo que os fármacos anticolinesterásicos e antagonistas NMDA atualmente utilizados não são capazes de impedir o caráter progressivo da doença (ALVES *et al.*, 2012; CHU, 2012; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023).

Os anticolinesterásicos e antagonistas de NMDA estão entre os fármacos empregados na prática clínica hoje, mesmo com resultados e efeitos considerados temporários e com baixa eficácia no que se refere à progressão da patologia (LOPEZ-POUSA *et al.*, 2010; BIRKS; HARVEY, 2018). Para o tratamento dos sintomas cognitivos na classe dos anticolinesterásicos, têm-se disponíveis três fármacos para tratamento da DA, a donepezila, a rivastigmina e a galantamina (FROELICH *et al.*, 2004; LÓPEZ-POUS *et al.*, 2005; KUMAR *et al.*, 2018). Consistem nos fármacos de primeira escolha no manejo da patologia nos estágios leves e moderados, sendo que a donepezila é o mais bem tolerado, demonstrando menores efeitos adversos (MUCKE, 2009; SUN *et al.*, 2011; ALVES *et al.*, 2012; CHU, 2012).

Apesar de eficácia controversa em estágios moderados e graves, os anticolinesterásicos em estágios iniciais apresentam eficácia apenas com melhoras dos sintomas por até 2 a 3 anos, com efeitos de apenas 4 a 5 meses em ensaios clínicos (FROELICH *et al.*, 2004), sendo que a donepezila e a memantina apresentaram eficácia nos estágios moderados a graves, apesar de também haver controvérsia nesses dados com outros estudos (LÓPEZ-POUS *et al.*, 2005; MOLINO *et al.*, 2013).

Apesar destes efeitos quando se refere à progressão da doença, os anticolinesterásicos e antagonistas de NMDA são aplicados na prática clínica pelos resultados apresentados em ensaios clínicos já analisados em metanálises no que se refere a melhora clínica cognitiva obtida (FROELICH *et al.*, 2004; BIRKS, 2006; ZHANG; GORDON, 2018).

Roggers, 1998, em seu ensaio clínico duplo cego, randomizado e controlado por placebo tratou com 5 e 10 mg de donepezila pacientes com DA por 24 semanas apresentando resultados do MEEM semelhantes aos que encontramos, entretanto com um incremento menor do que o que obtivemos com canabinóides seguido de uma queda após 18 semanas, chegando a 24 semanas com valores próximos ao basal, mas cabe ressaltar a

diferença com grupo placebo com este fármaco (MOLINO *et al.*, 2013).

Birks, 2006, já demonstra a eficácia dos anticolinesterásicos analisando 13 ensaios clínicos, randomizados e duplo-cego, controlados por placebo demonstrando não haver diferenças entre a donepezila, rivastigmina e galantamina, atribuindo-se um menor efeito adverso a donepezila e apresentando a descontinuação no tratamento devido a eles como um evento existente principalmente após 52 semanas de tratamento. Lopez-pousa *et al.*, 2010, mostra uma baixa eficácia da donepezila, mas demonstra um retardo na evolução da doença quando comparado a outros tratamentos para demência.

Na classe dos inibidores glutamatérgicos, o único representante é a memantina. Este fármaco é um antagonista não competitivo dos receptores NMDA, que age inibindo a toxicidade excitatória na demência, promovendo incremento cognitivo, podendo reduzir os sintomas comportamentais e psiquiátricos, é geralmente utilizada em estágios moderados a graves da doença (SCHNEIDER *et al.*, 2011). Porém, também não são capazes de interferir na progressão da neurodegeneração, agindo apenas de forma sintomática (ALVA, 2008; MAIDMENT *et al.*, 2008; YIANNOPOULOU; PAPAGEORGIU, 2013).

A memantina, o antagonista NMDA, apresentou baixa eficácia em monoterapia (MATSUNAGA; KISHI; IWATA, 2015), os estudos são curtos, entretanto há evidências de melhora com a associação com a donepezila em pacientes com quadros avançados (WIMBLAD *et al.*, 2007).

Os efeitos adversos principais são cefaléia, constipação, diarreia, tontura e sonolência. Além disso, mesmo que seu uso seja rotina nos consultórios, uma metanálise de três ensaios clínicos de um total de 431 pacientes com DA leve e 697 com DA moderada não encontrou diferenças estatísticas na função cognitiva em pacientes com DA leve entre memantina e placebo (SCHNEIDER *et al.*, 2011).

Tais resultados na melhora cognitiva dos pacientes são demonstradas por outros trabalhos (GRIFFITH, 2006; MOLINO *et al.*, 2013, ZHANG; GORDON, 2018; YOSHIDA, *et al.*, 2022) entretanto a baixa eficácia, os efeitos adversos, a não atuação em aspectos da qualidade vida e de sintomas psiquiátricos que culmina na descontinuação do tratamento são determinantes na evolução terapêutica (BLANCO-SILVENTE, *et al.*, 2017).

Considerando as diferenças do tamanho da amostra e as diferenças metodológicas, é possível comparar o efeito da donepezila demonstrado no “The Donald study” (FROELICH *et al.*, 2004). Neste open label, apresenta-se a ação da donepezila por seis meses. Apesar de uma melhora clínica evidenciada em torno do quarto mês, aos seis meses de tratamento o grupo tratado declina bruscamente ao nível esperado da evolução

natural da doença, efeito distinto do encontrado em nosso estudo onde o grupo tratado mantém a melhora clínica no sexto mês.

Os estudos com os anticolinesterásicos em sua grande maioria ocorrem em torno de 24 semanas de tratamento, alguns de 12 semanas, e apesar de se apontar uma melhora cognitiva há evidências que ela não se sustenta ao longo do tratamento caindo após as 12 semanas, eficácia que cai ainda mais com o uso de antipsicóticos necessários ao tratamento devido a evolução da patologia (YOSHIDA *et al.*, 2022).

Outra abordagem que ganhou destaque é a terapêutica antiamilóide, buscando a redução dos acúmulos BA que ocorrem na DA. Dentro desta abordagem temos o clioquinol, um quelante de ferro pertencente à classe dos inibidores de agregação que não demonstrou eficácia na cognição e mesmo com desenvolvimento de uma segunda geração PBT2 não apresentou efeito na cognição apesar de apresentar queda de BA no líquido em ensaio clínico (HANE *et al.*, 2017; DECOURT *et al.*, 2021).

Os inibidores de β -secretase e γ -secretase têm como perspectiva diminuir formação BA, e fazem parte dessa terapêutica, têm como alvo as atividades catalíticas da β -secretase e γ -secretase (IMBIMBO; WATLING, 2019; DECOURT *et al.*, 2021).

Inibidores de BACE1 apresentaram de fato a diminuição nos níveis de BA no líquido cefalorraquidiano (LCR) em modelos animais bem como em modelos clínicos, mas sem melhorar a cognição (Imbimbo, 2019). Vários inibidores de BACE1 chegaram a ensaios clínicos de fase III, como verubecestat, atabecestat, lanabecestat, LY3202626 umibecestat, mas esses medicamentos falharam devido à falta de eficácia ou piora da função cognitiva em pacientes com DA leve a moderada. O elenbecestat foi interrompido nos estudos de fase III porque mostrou uma relação risco/benefício desfavorável na DA precoce (DECOURT *et al.*, 2021).

Os inibidores da γ -secretase (como o semagacestat e avagacestat) os ensaios clínicos foram interrompidos devido a observação da deterioração cognitiva em pacientes com DA leve a moderada bem como efeitos adversos limitadores de doses (CORIC *et al.*, 2012). O modulador da γ -secretase, o tarenflurbil, também foi capaz de reduzir os níveis de BA42 e produzir peptídeos mais curtos que não são amiloidogênicos, mas não conseguiu demonstrar eficácia em ensaios clínicos, explicado pela capacidade muito fraca desses medicamentos de atravessar a barreira hematoencefálica, mantendo os inibidores da γ -secretase ainda em avaliações pré-clínicas (REINES *et al.*, 2004; MEYER *et al.*, 2019)

Os agentes anti-amilóides que constataram efetividade clínica ou de biomarcadores em estágio final de ensaios clínicos compreende os anticorpos anti-amilóides donanema-

be, aducanumabe, lecanemabe e gantenerumabe. Os quatro anticorpos citados são efetivos ao inibirem os efeitos tóxicos dos oligômeros BA, sendo o aducanumabe o principal entre eles, pois apesar de alguns insucessos em ensaios clínicos em último estudo mostrou redução importante BA em humanos (PANZA *et al.*, 2019).

Recentemente, em junho de 2021, o órgão regulatório americano Food and Drug Administration (FDA) aprovou o aducanumabe para o tratamento da DA leve na dosagem: 10 mg/kg de peso corporal, infusão intravenosa mensal, um anticorpo IgG1 humano recombinante que se liga principalmente a agregados amilóides BA solúveis e insolúveis capaz de se direcionar seletivamente as formas oligoméricas e fibrilares patológicas de BA (ARNDT, *et al.*, 2018).

Ensaio pré-clínicos com aducanumabe mostraram tamanho reduzido da placa BA de maneira dependente da dose em animais jovens (nove meses de idade), mas não em envelhecidos (22 meses de idade), sugerindo que ele previne a agregação de BA mais do que ajuda a absorver as placas existentes; entretanto estes resultados não acompanharam qualquer melhoria cognitiva ou comportamental (SEVIGNY *et al.*, 2016; KASTANENKA *et al.*, 2016).

Sua aprovação reside no desenvolvimento de trabalhos denominados PRIME, EVOLVE, ENGAGE e EMERGE, iniciados em 2015 pela empresa farmacêutica Biogen, terem apresentado evidências de redução de BA e melhora cognitiva em pacientes com DA e que apesar da interrupção antecipada por não cumprimento do endpoint primário, descobriu-se, usando uma análise post hoc, que no ensaio EMERGE um subgrupo de pacientes que receberam doses mais altas de aducanumabe demonstrou uma redução de 23% no declínio cognitivo conforme medido pela pontuação CDR-SB, uma redução de 27% na pontuação ADAS-Cog e uma redução de 40% na pontuação ADCS-ADL (VAN DYCK, 2018; HUANG; CHAO; HU, 2020; SELKOE, 2020; GKLINOS *et al.*, 2021; HAEBERLEIN *et al.*, 2022).

Em março de 2020, um estudo clínico de fase 3b foi iniciado com pacientes que participaram dos ensaios clínicos anteriores de fase 1 (PRIME), 2 (EVOLVE) e 3 (EMERGE e ENGAGE). Este ensaio ainda está em andamento, com conclusão prevista para outubro de 2023, e tem como objetivo avaliar a segurança e tolerabilidade do Aducanumab a longo prazo (OLIVERIA; CRUZ, 2021).

Embora este medicamento tenha demonstrado eficácia, a alta prevalência de 35,2% de anormalidades de imagem relacionadas ao amiloide - edema (ARIA-E) e hemorragia (ARIA-H) (SALLOWAY *et al.*, 2022; HAEBERLEIN *et al.*, 2022) gera uma limitação

significativa em termos de seu uso clínico.

O Lecanemabe (lecanemab-irmb; LEQEMBI™) é uma imunoglobulina gama 1 humanizada (IgG1) contra formas agregadas solúveis e insolúveis de peptídeo β -amilóide. Está sendo desenvolvido pela Eisai, sob licença global da BioArctic (anteriormente BioArctic Neuroscience), e em colaboração com a Biogen, para o tratamento da doença de Alzheimer, e recebeu sua primeira aprovação para esta indicação em 6 de janeiro de 2023 nos EUA sob o Accelerated Caminho de aprovação (HOY, 2023). Esta droga apresenta ligação de alta afinidade a protofibrilas solúveis de BA (SODERBERG *et al.*, 2023). Este medicamento reduz substancialmente a carga amilóide, mas os resultados clínicos são notavelmente modestos e sujeitos a controvérsia (VAN DICKY *et al.*, 2023). Além disso, o lecanemabe induz uma alta prevalência de eventos adversos, como ARIA-H com micro-hemorragias e ARIA-E, em taxas de 14% e 12,6%, respectivamente (VAN DICKY *et al.*, 2023).

Já os sintomas neuropsicológicos e comportamentais estão presentes em todos os estágios da doença, e além de interferir de forma direta na qualidade de vida do paciente, também exerce efeitos negativos sobre o dia a dia do cuidador (YIANNOPOULOU; PAPAGEORGIOU, 2013). Para aspectos comportamentais e do humor na DA são utilizados o uso de antidepressivos como sertralina, um inibidor seletivo da recaptção da serotonina (HANE *et al.*, 2017). Fármacos neurolépticos, em casos de agressividade, psicose e agitação, sendo a risperidona, por vezes o uso de fármacos antiepilépticos, como a carbamazepina para reduzir a agitação, e os benzodiazepínicos em casos mais pontuais (GAUTHIER *et al.*, 2010; YIANNOPOULOU; PAPAGEORGIOU, 2013).

Ademais várias classes de drogas, como antidepressivos, ansiolíticos e antipsicóticos são utilizados para o controle sintomático da doença, sendo incluídos no tratamento, configurando uma polimedicação. Essa variedade de fármacos, geralmente associados, induz uma eficácia reduzida, aumenta a probabilidade de interações medicamentosas e efeitos adversos, e ainda aumenta o custo do tratamento (GAUTHIER *et al.*, 2010; YIANNOPOULOU & PAPAGEORGIOU, 2013).

Dessa forma, a busca por opções de tratamento novas que tragam melhora substancial e que possam interromper a progressão da doença torna-se um imperativo visto o contexto atual da epidemiologia e tratamento. Portanto, é necessário estabelecer tratamentos mais efetivos, que tenham a capacidade de interferir na progressão da doença. Isso se torna mais claro quando verificado que a polimedicação no tratamento da DA faz com que reações adversas sejam mais frequentes e acentuadas, não permitindo a real

melhora da qualidade de vida dos pacientes.

As evidências com a terapia antiamilóide demonstram um caminho com potencialidade quando comparado aos anticolinesterásicos e antagonistas NMDA por atuarem nas causas fisiopatogênicas da doença e não nas conseqüências destas, rumo este que as evidências com canabinóides também parecem atuar, além de todo um balanço na relação entre respostas pró e anti-inflamatórias que ocorrem durante o desenvolvimento e morte neuronal na DA.

Em síntese, os anticolinesterásicos atuam em um processo único e digamos final da patologia quando já não há mais células a se recuperar, já os anticorpos monoclonais atuam apenas na redução BA e espera-se que a resposta inflamatória se resolva, seguido da neurodegeneração. No entanto, os canabinóides parecem atuar tanto na redução de BA e hiperfosforilação de PT, além de atuar na resposta neuroinflamatória diretamente nos atores deste processo, restaurando a homeostasia do SEC, importante dentro do processo de envelhecimento e da função neurofisiológica, quebrando o ciclo inflamação, excitotoxicidade estresse oxidativo e morte neuronal (RUSSO, 2018).

5.3. Canabinóides e DA

A patogenia e fisiopatologia ainda são alvos de pesquisas e compreensão pela ciência, por mais que haja elementos levantados, lacunas ainda estão presentes com perguntas e teorias que necessitam de respostas. Na busca por um tratamento adequado para a DA, as pesquisas com os efeitos dos canabinóides e as descobertas do SEC e sua participação na homeostasia, estão atualmente sendo objetos de muitos estudos (RUSSO, 2018; FATTORE, 2015; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2023).

Essas descobertas contribuem para a teoria levantada por Russo, 2018, do envolvimento da queda do sistema endocanabinóide com o desenvolvimento de condições patológicas, ou seja, uma relação entre a modulação do sistema endocanabinóide, o envelhecimento e a DA. Nesse sentido, conjecturar o potencial terapêutico em sintomas mnemônicos e não-mnemônicos da doença como resultado de interações entre SEC e fisiopatologia da DA torna-se mais palpável, colocando os canabinóides como grupo de moléculas no rol da busca por drogas que afetam os diferentes aspectos da doença para uma nova perspectiva para o tratamento da DA (LIU *et al.*, 2015; WEINSTEIN, 2017).

Embora não haja nenhum estudo clínico mostrando que microdoses de canabinóides possam induzir efeitos terapêuticos, estudos *in vitro* e *in vivo* mostram que o THC é

capaz de ativar os receptores CB1 e CB2 nas faixas de concentração nano e micromolares (JENNY *et al.*, 2009; CURRAIS *et al.*, 2016; CURY *et al.*, 2019). Já há evidências de que doses muito baixas de THC, como 0,002 mg/kg, induzem melhoras na memória, aprendizagem e parâmetros cognitivos em ratos (FISHBEIN *et al.*, 2012; FISHBEIN-KAMINIETSKY; GAFNI; SARNE, 2014; BILKEY-GORZO *et al.*, 2017; SARNE *et al.*, 2018).

Van den Elsen *et al.*, 2015, em um ensaio clínico, randomizado, duplo-cego controlado por placebo não encontrou resultados significativos com 1,5 mg THC, entretanto apresentou boa tolerabilidade.

Shelef *et al.*, 2016, em seu *open label* demonstra que um tratamento de 2,5 mg de THC de duas vezes ao dia a cada 12 horas por 4 semanas com óleo de cannabis rico em THC, foi capaz de melhorar a cognição e sintomas psiquiátricos em pacientes portadores de DA na avaliação com o MEEM, o Escala de gravidade da Impressão Clínica Global (EGICG), Escala de Melhoria da Impressão Clínica Global (EMICG) e Inventário Neuropsiquiátrico (INP) com diferença estatística significativa em todos os testes. Neste trabalho pode-se observar a melhora cognitiva entre o intervalo de duas a quatro semanas, entretanto o curto intervalo de tempo e o número amostral pequeno (11 participantes finalizaram o estudo) diminuem a robustez dessa evidência. Apesar de bem tolerado quanto aos efeitos adversos, houve necessidade de reajuste na dose a um paciente que apresentou confusão com o tratamento, uma vez que foi realizado a progressão da dose até 7,5 mg duas vezes ao dia.

Recentemente nosso grupo publicou relatos de caso com o uso de microdoses de canabinóides para tratamento de espasticidade em pacientes pós traumatismo crânio-encefálico (TCE) grave, com melhoras cognitivas e neuromusculares (CURY *et al.*, 2019), bem como relato de caso que demonstra um efeito importante na DA com uso de microdoses (RUVEN *et al.*, 2022).

Ruver *et al.*, 2022, avaliando mensalmente, demonstrou que o tratamento com extrato de canabinóides por 22 meses em um paciente com DA resultou em melhora cognitiva sustentada durante todo o acompanhamento por meio da aplicação do MEEM e do ADAS-cog, sendo a dose de 500 microgramas de THC a que obteve os melhores escores. Este trabalho foi base para o desenvolvimento e tomada decisão da posologia aplicada neste ensaio clínico, posto os benefícios identificados a este paciente, nos chamando a atenção para a sustentação desta melhora clínica ao longo do tratamento.

A origem e o histórico dos princípios ativos envolvidos no efeito aqui discutido passam por evidências de neurotoxicidade e de neuroproteção, uma vez que os canabinói-

des se encontram ao mesmo tempo no contexto do uso abusivo de substâncias e no desenvolvimento de tratamentos. Sarne & Karen, 2004, dissertam sobre tais evidências e hipotetizam que a neurotoxicidade e neuroproteção com uso dos canabinóides está relacionado a doses administradas crônica e agudamente, respectivamente, entretanto a neurotoxicidade é derivada de doses altas e ao uso abusivo/recreativo e as evidências de neuroproteção às doses mais baixas e a outras formas de apresentação/administração, demonstrando que uma relação importante entre via de administração, dose e efeito dos canabinóides, principalmente o THC.

Dessa forma, nos parece que os efeitos neuroprotetores do THC estão relacionadas às microdoses que estabelecem uma “mimetização” do SEC no idoso, restabelecendo a homeostasia e produção de neurotrofinas como o BDNF, proteínas axonais e sinápticas, bem como a redução de fatores inflamatórios e respostas inflamatórias que levam a estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e à morte neuronal (FAKHFOURI *et al.*, 2012; CURRAIS *et al.*, 2016; BILKEY-GORZO *et al.*, 2017, SARNE *et al.*, 2018).

Dentro deste contexto, cabe ressaltar também o papel do BDNF, que mostrou ser um suporte neurotrófico no neurônio do sistema nervoso central, uma molécula chave na manutenção da plasticidade sináptica e armazenamento de memória no hipocampo. Na DA, contudo, mudanças de nível e expressão de BDNF são relatadas no SNC, bem como no sangue, enquanto que outros estudos mostraram o contrário, deixando em aberto esta correlação (SONG *et al.*, 2014).

5.4. Segurança da dose

Neste trabalho não foram evidenciados efeitos adversos significativos, demonstrando uma boa tolerabilidade e segurança do uso.

Recentemente, nosso grupo realizou estudos de caso clínico, em três pacientes, com espasticidade, doença de Parkinson e DA e demonstrou que o tratamento com extrato de cannabis além de promover melhoras clínicas significativas com microdoses, também não induziu nenhum efeito adverso. Este campo da dose é consideravelmente menor do que as usualmente utilizadas em outros estudos clínicos, que são doses expressas em miligramas por quilo de peso corporal (mg/kg), e que mesmo assim tem demonstrado bom perfil de segurança e potencial terapêutico (VAN DEN ELSEN *et al.* 2015; SHELEF *et al.*, 2016).

O THC começa a apresentar efeitos psicoativos e efeitos adversos, semelhantes

aos ansiolíticos benzodiazepínicos, como tonturas, baixa concentração, distúrbio locomotor fino e outros com doses de maiores de 30 mg por dia (ASHTON, 2001).

Os efeitos relacionados à crise de retirada, como irritabilidade, alterações de humor e sono em usuários crônicos, começam em doses superiores a 150 mg/dia (ADAMS; MARTIN, 1996; ASHTON, 2001). Em contrapartida, estudos recentes demonstram efeitos benéficos e protetores do SNC dos canabinóides em doses baixas, na ordem de microgramas (CURRAIS *et al.*, 2016; BILKEY-GORZO *et al.*, 2017, SARNE *et al.*, 2018).

Os canabinóides são fármacos extremamente seguros no que se refere a efeitos adversos e intoxicações. Mesmo em doses bastante elevadas, a partir de 30 mg, apresentam um perfil leve de efeitos colaterais que normalmente são sonolência, náusea, diarreia e ansiedade, que geralmente são reduzidos com titulação de dose (VAN DEN ELSEN *et al.* 2015; SHELEF *et al.*, 2016; KEATING, 2017).

Além disso, o uso de extratos que apresentam THC e CBD é melhor tolerado e apresentam menos efeitos colaterais quando comparados a isolados ou sintéticos (PAMPLONA; COAN, 2017), sendo que são estudados particularmente o THC e CBD dentre os canabinóides que possuem capacidade de atenuar o processo inflamatório (BURSTEIN *et al.*, 2009; TURCOTTE *et al.*, 2015).

5.5. Considerações finais

Com os resultados deste estudo, pode-se concluir que há evidências de que os canabinóides podem atuar na melhoria clínica dos pacientes portadores de DA, visto a diferença estatística significativa encontrada nos resultados da escala MEEM.

Este, possivelmente, é o primeiro ensaio clínico na literatura com microdoses de extrato de cannabis e DA, e apesar disso, fica claro a partir desses dados de que o tratamento com os canabinóides, principalmente o THC, possui um potencial terapêutico evidente, colocando-se assim como uma das novas frentes de pesquisa como fármaco cujo efeito correlaciona-se com a fisiopatologia da doença, incluindo todos os alvos terapêuticos hoje em discussão reduzindo o estresse oxidativo, modulando a neurotransmissão pelo receptor CB1, reduzindo a resposta inflamatória e atuação das células da micróglia no *clearance* de BA e diminuição da hiperforilação de PT pela atuação nos receptores CB2, e ao mesmo tempo aumenta a produção de BDNF no tecido nervoso.

A ausência de diferença estatística significativa em nosso estudo entre os valores obtidos na análise bioquímica do líquido dos marcadores relacionados à patologia pode ser

explicada pelo número reduzido de participantes em nosso estudo, ou pelo fato das coletas terem ocorrido em um curto espaço de tempo de tratamento, quando considera-se o processo gradual de anos da evolução da patologia. Entretanto, apesar da não diferença estatística encontrada tanto entre os grupos como entre os tempos a observação de um padrão correspondente ao esperado, se observou valores de BDNF aumentados e de TAU total reduzidos.

A não diferença estatística nas escalas do ADAS-cog e DSRS pode ser pensada por perspectivas distintas, digamos por limitações que não foram previstas e que provavelmente contribuíram para obtenção dos dados, pontua-se aqui duas que deduzi ser relevantes.

Na primeira pelo fato de ser uma escala longa e aplicada seqüencialmente ao MEEM. Os pacientes apresentavam por diversas vezes a interrupção da realização nesta etapa por meios de solicitações expressas, tendo que se estabelecer um diálogo para retomada da tarefa, colando-se de modo exaustivo e com certo grau leve de irritabilidade no curso da avaliação, muitas vezes se queixando do excesso de atividades. Condição esta que curiosamente foi melhorando durante o tratamento para alguns. Já a segunda por ser respondida pelo fato de que o DSRS é diretamente respondido pelo cuidador e não aplicado a ele. Durante a coleta dos dados, inúmeras vezes apresentavam confusão na interpretação das respostas, constatado por diversas indagações em todas as avaliações, mesmo após explicação sobre o questionário, e, para não influenciar na coleta de dados, optou-se por responder as dúvidas, mas nunca discutir as respostas que eram preenchidas, da qual poderia ser a condição do paciente na perspectiva do cuidador para referido tópico.

Apesar de não ser encontrada diferença estatística significativa pelo ADAS-cog e DSRS, ao término do ensaio clínico os pacientes tratados encontram-se em escores melhores que os que estavam no grupo placebo em termos de valores absolutos.

Para um ensaio clínico que avalie o efeito clínico de um determinado fármaco na DA não há a necessidade de implementação de múltiplas ferramentas clínicas, sendo o MEEM uma ferramenta de fácil aplicação e pouca interferência na disposição do paciente. Tentativas na correlação entre efeitos com a variação de marcadores no líquor devem ser estabelecidas mesmo que ainda não haja padrões de referência ainda definidos.

Durante a coleta de dados foi possível observar a relação de satisfação dos pacientes e familiares comporem o estudo, a relação agradável com o tratamento visto sua facili-

dade de administração e a alta tolerabilidade que contribuíram para a manutenção do tratamento.

Ao longo do ensaio era evidente pela experiência da equipe que vários pacientes apresentavam ganhos durante as avaliações, principalmente aspectos cognitivos indiretos, como a disposição de realizar os testes, o humor e manutenção do foco nas tarefas. A avaliação do tempo necessário para realização dos testes é uma variável que pode ser cogitada para análise em futuros estudos como um modo de avaliar estas características que poderiam ser consideradas também evidências de melhora clínica.

Há um elemento importante que se faz necessário citar, muitos familiares traziam o relato de redução de doses de anti-hipertensivos, hipoglicemiantes e fármacos como antipsicóticos, ISRS e estabilizadores de humor, por melhora clínica e dos valores de controle.

Este estudo passou por inúmeras dificuldades como a falta de orçamento, a dificuldade na obtenção de um fármaco com garantia e qualidade e o momento da pandemia, que nos trouxe muita preocupação quanto a saúde dos participantes já que compõem o grupo de risco, além da necessidade de interrupção de uma das coletas de dados.

Durante a pandemia tivemos que realizar uma interrupção nas coletas de dados o que levou ao intervalo maior entre T3 e T6. Mesmo com o retorno, buscamos manter todas as seguranças sanitárias difundidas na época, o que trouxe uma necessidade de ampliar nossa capacidade de organização e execução das tarefas desde os agendamentos, passando pelo recebimento até coleta de dados de todos os pacientes isoladamente.

Por fim, neste trabalho, propomos que o uso de microdoses de canabinóides pode ser um potencial para impedir a progressão da DA, bem como em casos leves e moderados ocorrer uma regressão da doença; uma vez que supomos que estas microdoses podem estimular o retorno da homeostasia do sistema endocanabinóide, algo que poderíamos chamar de “reposição canabinóide”, e que esta reposição atua tanto no processo inflamatório como na própria fisiopatogenia da doença, diminuindo o acúmulo e formação de BA, a hiperfosforilação de PT, ao mesmo tempo em que se apresenta como um tratamento com alta segurança e tolerabilidade, já que não foram observados efeitos adversos significativos neste campo de dose.

6. CONCLUSÕES

Neste estudo foi possível evidenciar uma diferença estatística significativa pela escala MEEM entre o grupo tratado com a dose de 0,245 mg de CBD e 0,350 mg de THC e o grupo placebo. Não foi possível evidenciar diferença estatística na escala Adas-cog e DSRS, bem como nas análises de líquido quanto aos valores de BDNF e Tau total.

Nenhum efeito adverso significativo foi constatado neste estudo, demonstrando que nesta faixa de dose há uma alta tolerabilidade e segurança.

Os resultados aqui apresentados demonstram que canabinóides tem potencial de ser uma alternativa viável e eficaz no controle e tratamento da DA, devendo ser melhor exploradas em futuras pesquisas. Mais estudos devem ser realizados com número maior de participantes, buscando verificar a diferença estatística, bem como correlacionar com os valores dos marcadores no líquido, ou mesmo com uso de exames de imagem para quantificação cerebral, buscando confirmar ou não os efeitos dos canabinóides, posto a possibilidade de conter a progressão da patologia.

Até onde sabemos, este é o primeiro e mais longo ensaio clínico, randomizado, duplo-cego e controlado por placebo avaliando o potencial terapêutico de canabinóide em pacientes portadores de DA. Além disso, resultados deste trabalho podem servir como suporte para novos desenhos experimentais, que visem avaliar efeitos da cannabis e seus derivados sobre sintomas da DA visando inserir estes produtos na prática clínica, visto que os tratamentos atuais são deveras limitados em termos de eficácia e efeitos colaterais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, I. B.; Martin, B. R.. *Cannabis pharmacology and toxicology in animals and humans*. **Addiction**. n. 91, pp. 1585-1614, 1996.

ALALI, S. *et al.*. *Cannabidiol inhibits tau aggregation in vitro*. **Cells**, n. 13, v. 10, pp. 3521, dez. 2021.

ALVA, G. C. J. L.. *Relative tolerability of Alzheimer's disease treatments*. **Psychiatry**, n. 05, v. 11, pp. 27-36, 2008.

ALVES, L. *et al.*. *Alzheimer's Disease: a clinical practice-oriented review*. **Frontiers in Neurology**. n. 03, v. 63, pp. 01-20, 2012.

ALZHEIMER'S ASSOCIATION. *Alzheimer's Disease facts and figures*. **Alzheimers Dement**, n. 19, v. 04, pp. 1598-1695, abr. 2023.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5**. 5ª ed.. ARTMED. 2014.

ANGELIS, V. DE *et al.*. *Endocannabinoids control platelet activation and limit aggregate formation under flow*. **PLOS ONE**. v. 09, n. 09, pp. e108282. Kathleen Freson, University of Leuven, Belgium. 2014.

APRAHAMIAN, I.. *Doença de Alzheimer: revisão da epidemiologia e diagnóstico*. **Rev. Bras. Clin. Med.**, n. 07, pp. 27-35, 2009.

ARNDT, J. W. *et al.*. *Structural and kinetic basis for the selectivity of aducanumab for aggregated forms of amyloid- β* . **Sci Repp.**, n. 08, 01-16, 2018.

ASHTON, C. H.. *Pharmacology and effects of cannabis: a brief review*. **British Journal of Psychiatry**, n. 178, pp. 101-106, 2001.

ASO, E. et al.. *CB2 cannabinoid receptor agonist ameliorates Alzheimer-like phenotype in A β PP/PS1 mice. **J. Alzheimers Dis.**, n. 35, pp. 847-858, 2013.*

ASO, E. et al.. *Cannabinoid receptor 2 participates in amyloid- β processing in a mouse model of Alzheimer's disease but plays a minor role in the therapeutic properties of a cannabis-based medicine. **Journal of Alzheimer's Disease**, n. 51, v. 02, pp. 489-500, 2016.*

ASO, E. et al.. *Cannabis-based medicine reduces multiple pathological processes in A β PP/PS1 mice. **Journal of Alzheimer's Disease**, n. 43, v. 03, pp. 977–991, 2015.*

ASSAL, F.. *History of dementia. In: BOGOUSSLAVSKY, J.; BOLLER, F.; IWATA, M. (Ed.). A history of neuropsychology. **Front Neurol Neurosci.**, Basel, Karger, v. 44, pp. 118-126, 2019.*

ATALLAH, AN; Castro, A. A.. **Medicina baseada em evidências**: fundamentos da pesquisa clínica. São Paulo/São Paulo: UNIFESP/EPM/Lemos-Editorial, 1998.

BANERJEE, S. et al.. *Sertraline or mirtazapine for depression in dementia (HTA-SADD): a randomised, multicentre, double-blind, placebo-controlled trial. **Lancet**, n. 378, pp. 403-411, 2011.*

BARRIE, N.; MANOLIOS, N.. *The endocannabinoid system in pain and inflammation: its relevance to rheumatic disease. **European Journal of Rheumatology**, v. 04, n. 03, pp. 210-218, 2017.*

BARTUS, R. T.; EMERICH, D. F.. *Cholinergic markers in Alzheimer disease. **JAMA**, n. 282, v. 23, pp. 2208-2209, 1999.*

BENITO, C. et al.. *Cannabinoid CB2 receptors and fatty acid amide hydrolase are selectively overexpressed in neuritic plaque-associated glia in Alzheimer's disease brains. **Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 35, pp. 11136-11141, 2003.*

BENITO, C. et al.. *Neuroinflammation and the glial endocannabinoid system. In:*

KOÖFALVI, A. (Ed.). **Cannabinoids and the brain**. Springer, New York, pp. 331-359, 2008.

BERO, A. W. *et al.*. *Neuronal activity regulates the regional vulnerability to amyloid- β deposition*. **Nature neuroscience**, n. 14, v. 06, 2011.

BERTOLUCCI *et al.*. *The mini-mental state examination in an outpatient population: influence of literacy*. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**. n. 52, v. 01, pp. 01-07, 1994.

BILKEI-GORZO, A.. *The endocannabinoid system in normal and pathological brain ageing*. **Phil. Trans. R. Soc. Lond. B**, n. 367, pp. 3326-3341, 2012.

BILKEI-GORZO, A. *et al.*. *A chronic low dose of Δ 9-tetrahydrocannabinol (THC) restores cognitive function in old mice*. **Nature Medicine**, n. 23, v. 06), pp. 782-787, 2017.

BIRKS, J.. *Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease*. **Cochrane Database Syst Ver.**, n. 25, v. 01, CD005593, jan., 2006.

BIRKS, J. S.; HARVEY, R. J.. *Donepezil for dementia due to Alzheimer's disease*. **Cochrane Database Syst Ver.**, n. 18, v. 06, CD001190, jun., 2018.

BLACWELL, W.. (Editado por Marzo, V di). **Cannabinoids**. 2014.

BLANCO-SILVENTE, L. *et al.*. *Discontinuation, efficacy, and safety of cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease: a meta-analysis and meta-regression of 43 randomized clinical trials enrolling 16 106 patients*. **Int. J. Neuropsychopharmacol.** 1, n. 20, v. 07, pp. 519-528, jul., 2017.

BORGELT, L. M. *et al.*. *The pharmacologic and clinical effects of medical cannabis*. **Pharmacotherapy**, v. 33, n. 2, pp. 195-209, 2013.

BRAAK, H.; BRAAK, E.. *Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories*. **Neurobiology of Aging**, n. 18, v. 04, pp. 351-357, 1997.

BRASIL. Ministerio da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Ensaio clínico: princípios e prática**. Brasília: ANVISA, 2006.

BURSTEIN, S. H.; ZURIER, R. B.. *Cannabinoids, endocannabinoids, and related analogs in inflammation*. **AAPS J.**, n. 11, v. 109, 2009.

CAMPBELL, V. A.; GOWRAN, A.. *Alzheimer's disease; taking the edge off with cannabinoids?*. **Br. J. Pharmacol.**, n. 152, pp. 655-662, 2007.

CAVAZZONI, P.. *FDA's decision to approve new treatment for Alzheimer's disease*. **FDA**, 2021.

CHAVES, M. L. F.; *et al.*. Doença de Alzheimer: avaliação cognitiva, comportamental e funcional. *In*: BRUCKI, S.M.D.; SCHULTZ, R. R. **Dementia & Neuropsychologia**, n. 01, v. 05, suppl. 01, pp. 21-29, 2011.

CHAVES, M. L. *et al.*. *Incidence of mild cognitive impairment and Alzheimer disease in southern Brazil*. **Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology**, v. 22, n. 03, pp. 181-187, set., 2009.

CHU, L. W.. *Alzheimer's disease: early diagnosis and treatment*. **Hong King Med J.**, n. 18, v. 03, pp. 228-337, 2012.

CLEMENTE, C. E. T.; PINTO, R. A. S. R. **Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria**, jan./abr., n. 21, v. 01, pp. 33-50, 2017.

CORIC, V. *et al.*. *Safety and tolerability of the γ -secretase inhibitor Avagacestat in a phase 2 study of mild to moderate Alzheimer disease*. **Arch Neurol.**, n. 69, pp. 1430-1440, 2012.

CRIPPA, J. A. de S.; ZUARDI, A. W.; HALLAK, J. E. C.. *Therapeutical use of the cannabinoids in psychiatry*. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 32, suppl. I, 2010.

CRUM, R. M. *et al.*. *Population-based norms for the mini-mental state examination by age and educational level*. **Jama**, v. 269, n. 18, 1993.

CURRAIS, A. *et al.*. *Amyloid proteotoxicity initiates an inflammatory response blocked by cannabinoids.* **NPJ Aging and Mechanisms of Disease**, n. 02, v. 16012, 2016.

CURY, R. M. *et al.*. *Cannabinoid microdosing improve spasticity in a traumatic brain injury patient: a case study.* **J Pharm Sci Therap.**, n. 05, v. 01, p. 326-335, 2019.

DE MARCH, Z. *et al.*. *Cortical expression of brain derived neurotrophic factor and type-1 cannabinoid receptor after striatal excitotoxic lesions.* **Neuroscience**, n. 152, pp. 734-740, 2008.

DECOURT, B. *et al.*. *Critical appraisal of amyloid lowering agents in AD.* **Curr Neurol. Neurosc Rep.**, n. 21, v. 39, 2021.

DEVANE, W. A. *et al.*. *Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor.* **Science**, v. 258, n. 5090, pp. 1946-1949, 18 dez. 1992.

DI MARZO, V. *et al.*. *Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons.* **Nature**, n. 372, pp. 686-691, 1994.

DI MARZO, V.; STELLA, N.; ZIMMER, A.. *Endocannabinoid signalling and the deteriorating brain.* **Nat. Rev. Neurosci.**, n. 16, pp. 30-42, 2015.

DINIZ, B. S. O.; FORLENZA, O. V.. *O uso de biomarcadores no líquido cefalorraquidiano no diagnóstico precoce da doença de Alzheimer.* **Rev. Psiq. Clín.**, n. 34, v. 03, pp. 144-145, 2007.

DONG, W. *et al.*. *The classification of Cannabis hemp cultivars by thermal desorption direct analysis in real time mass spectrometry (TD-DART-MS) with chemometrics.* **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 2019.

DONG, X. X.; WANG, Y.; QIN, Z. H.. *Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases.* **Acta Pharmacol. Sin.**, n. 30, pp. 379-387, 2009.

DUARTE, J. M. *et al.*. *CB1 receptor activation inhibits neuronal and astrocytic intermediary metabolism in the rat hippocampus*. **Neurochem. Int.**, n. 60, pp. 01-08, 2012.

DUBOIS, B. *et al.*. *Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria*. **Lancet Neurol**, n. 06, pp. 734-746, 2007.

ESPOSITO, G. *et al.*. *CB1 receptor selective activation inhibits beta-amyloid-induced iNOS protein expression in C6 cells and subsequently blunts tau protein hyperphosphorylation in co-cultured neurons*. **Neurosci Lett.**, n. 404, v. 03, pp. 342-346, sep., 2006.

FAKHFOURI, G. *et al.*. *WIN55212-2 attenuates amyloid-beta-induced neuroinflammation in rats through activation of cannabinoid receptors and PPAR-g pathway*. **Neuropharmacology**, n. 63, pp. 653-666, 2012.

FALCO, A. de *et al.*. *Doença de Alzheimer: hipóteses etiológicas e perspectivas de tratamento*. **Quim. Nova**, n. 39, v. 01, pp. 63-80, 2016.

FACCHINETTI, F. *et al.*. *Cannabinoids ablate release of TNFalpha in rat microglial cells stimulated with lipopolysaccharide*. **Glia**, n. 41, pp. 161-168, 2003.

FATTORE, L.. **Cannabinoids in neurologic and mental disease**. 1 ed.. Elsevier Inc., 2015.

FERNÁNDEZ-RUIZ, J. *et al.*. *Prospects for cannabinoid therapies in basal ganglia disorders*. **British Journal of Pharmacology**, n. 163, v. 07, pp. 1365-1378, 2011.

FERNÁNDEZ-RUIZ, J. *et al.*. *Cannabidiol for neurodegenerative disorders: important new clinical applications for this phytocannabinoid?* **British Journal of Clinical Pharmacology**, n. 75, v. 02, pp. 323-333, 2013.

FISHBEIN, M. *et al.*. *Long-term behavioral and biochemical effects of an ultra-low dose of D9 -tetrahydrocannabinol (THC): neuroprotection and ERK signaling*. **Exp Brain Res.**, n. 221, pp. 437-448, 2012.

FISHBEIN-KAMINIETSKY, M.; GAFNI, M.; SARNE, Y.. *Ultralow doses of cannabinoid drugs protect the mouse brain from inflammation-induced cognitive damage. JNeurosci Res.*, n. 92, pp. 1669-1677, 2014.

FORLENZA, O. V.. *Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer. Rev. Psiqu. Clin.*, n. 32, v. 03, pp. 137-148, 2005.

FOSTER, B.; ABRAMOVICI, H.; HARRIS, C. S.. *Cannabis and cannabinoids: kinetics and interactions. The American Journal of Medicine*, n. 132, v. 11, pp. 1266-1270, 2019.

FROELICH, L.; et al.. *Donepezil for Alzheimer's disease in clinical practice – the DONALD study a multicenter 24-week clinical trial in Germany. Dement Geriatr Cogn Disord*, n. 18, pp. 37-43, 2004.

FROTA, N. A. F. et al.. *Critérios para o diagnóstico de doença de Alzheimer. Dement Neuropsychol*, v. 05, n. 01, pp. 05-10, 2011.

GAJARDO-GÓMEZ, R. et al.. *Cannabinoids prevent the amyloid β -induced activation of astroglial hemichannels: a neuroprotective mechanism. Glia*, n. 65, pp. 122-137, 2017.

GAO, Y. et al.. *Loss of retrograde endocannabinoid signaling and reduced adult neurogenesis in diacylglycerol lipase knock-out mice. J. Neurosci.*, n. 30, pp. 2017-2024, 2010.

GAONI, Y.. MECHOULAM, R.; *Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. J. Am. Chem. Soc.*, n. 86, pp. 1646-1647, 1964.

GAUTHIER, S. et al.. *Management of behavioral problems in Alzheimer's disease. International Psychogeriatrics*, n. 22, v. 03, pp. 346-372, 2010.

GBD 2016 DEMENTIA COLLABORATORS. *Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016. Lancet Neurol.*, n. 18, pp. 88-106, 2019.

GENIN, E. et al.. *APOE and Alzheimer disease: a major gene with semi-dominant inheri-*

tance. **Molecular Psychiatry**, n. 16, v. 09, pp. 903-907, 2011.

GIL, A. C.. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. 5. ed.. São Paulo: Atlas, 2010.

GINTER, E, *et al.*. *Novel potential for the management of Alzheimer disease*. **Bratisl Med J.**, n. 116, v. 10, pp. 580-581, 2015.

GKLINOS, P. *et al.*. *Monoclonal antibodies as neurological therapeutics*. **Pharmaceuticals**, n. 14, v. 92, 2021.

GOEDERT, M.. *Alzheimer's and Parkinson's diseases: the prion concept in relation to assembled A β , Tau, and α -Synuclein*. **Science**, n. 349, v. 6248, 2015.

GOEDERT, M.; SPILLANTINI, M. G.. *A century of Alzheimer's disease*. **Science**, n. 314, v. 5800, pp. 777-781, 2006.

GOLDE, T. E., CHRISTOPHER B. E.; STEVEN G. Y.. *Biochemical detection of AB isoforms: implications for pathogenesis, diagnosis, and treatment of Alzheimer's disease*. **Biochimica et Biophysica Acta**, n. 1502, v. 172-187, 2000.

GREENAMYRE, J. T.; YOUNG, A. B. *Excitatory amino acids and Alzheimer's disease*. **Neurobiol. Aging.**, n. 10, v. 593, 1989.

GRIFFITH, P. *et al.*. *Safety and efficacy of donepezil in African Americans with mild-to-moderate Alzheimer's disease*. **J Natl Med Assoc.**, oct., n. 98, v. 10, pp. 1590-1597, 2006.

GROTENHERMEN, F.. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids*. **Clin. Pharmacokinet**, n. 42, v. 04, pp. 327-360, 2003.

HAEBERLEIN, S. B. *et al.*. *Two randomized phase 3 studies of aducanumab in early Alzheimer's disease*. **J Prev Alzheimers Dis.**, n. 09, v. 02, pp. 197-210, 2022.

HANE, F. T.; LEE, B. Y.; LEONENKOA, Z.. *Recent progress in Alzheimer's disease re-*

search, part 1: pathology. **Journal of Alzheimer's Disease**, n. 57, v. 01, pp. 01-28, 2017.

HANE, F. T. *et al.*. Recent progress in Alzheimer's disease research, part 3: diagnosis and treatment. **Journal of Alzheimer's Disease**, n. 57, pp. 645-665, 2017.

HARDY, J.; DENNIS J. S.. *The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics.* **Science**, n. 297, v. 5580, pp. 353-356, 2002.

HOCHMAN, B.; NAHAS, F. X.; OLIVEIRA FILHO, R. S.; FERREIRA, L. M.. Desenhos de Pesquisa. **Acta Cir. Bras.**, v. 20, supl. 02, pp. 02-09, 2005.

HOLTZMAN, D. M; MORRIS, J. C., GOATE, A. M.. *Alzheimer's disease: the challenge of the second century.* **Sci. Transl. Med.**, n. 03, v. 77, 2011.

HOWLETT, A. C.; ABOOD, M. E.. *CB1 and CB2 receptor pharmacology. 1. ed.* [s.l.]: **Elsevier Inc.**, v. 80, 2017.

HOWLETT, A. C.. *The cannabinoid receptors.* **Prostaglandins Other Lipid Mediat.**, n. 68-69, pp. 619-631, 2002.

HOWLETT, A. C.; BLUME, L. C.; DALTON, G. D.. *CB1 cannabinoid receptors and their associated proteins.* **Curr. Med. Chem.**, n. 17, pp. 1382-1393, 2010.

HOY, S. M. *Lecanemab: first approval.* **Drugs**, n. 83, pp. 359-365, 2023.

HUANG, L. K.; CHAO, S. pp.; HU, C. J.. *Clinical trials of new drugs for Alzheimer disease.* **J Biomed Sci.**, n. 27, pp. 01-13, 2020.

IMBIMBO, B. P.; WATLING, M.. *Investigational BACE inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease.* **Expert Opin Investig Drugs Taylor Francis**, n. 28, pp. 967-975, 2019.

IWATSUBO, T. *et al.*. Visualization of A β 42(43) and A β 40 in senile plaques with end-specific A β monoclonals:evidence that an initially deposited species is A β 42(43). **Neuron**, n.

13, pp. 45-53, 1994.

JACK, J. R. *et al.*. *Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging: Alzheimer's association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia***, n. 07, pp. 257-262, 2011.

JENNY, M. *et al.*. *Δ 9-Tetrahydrocannabinol and cannabidiol modulate mitogen-induced tryptophan degradation and neopterin formation in peripheral blood mononuclear cells in vitro. **J Neuroimmunol.***, n. 207, pp. 75-82, 2009.

JONSSON, T. *et al.*. *Amutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. **Nature***, n. 488, pp. 96-99, 2012.

JUCKER, M.; WALKER, L. C.. *Pathogenic protein seeding in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. **Ann Neurol.***, n. 70, pp. 532-540, 2011.

JUNG, K. M. *et al.*. *Na amyloid beta42-dependent deficit in anandamide mobilization is associated with cognitive dysfunction in Alzheimer's disease. **Neurobiol. Aging***, n. 33, pp. 1522-1532, 2012.

KASTANENKA, K. V., *et al.*. *Immunotherapy with aducanumab restores calcium homeostasis in Tg2576 mice. **J Neurosci.***, n. 36, pp. 12549-12558, 2016.

KAYED, R. *et al.*. *Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis. **Science***, n. 300, v. 5618, pp. 486-489, 2003.

KEATING, G. M.. *Delta-9-Tetrahydrocannabinol - cannabidiol oromucosal spray (Sativex[®]): a review in multiple sclerosis-related spasticity. **Drugs***, n. 77, pp 563-574, 2017.

KHAN, I. R.; NIRZHOR, S. S. R.; RASHID, B.. *A closer look into the role of protein Tau in the identification of promising therapeutic targets for Alzheimer's disease. **Brain Sci.***, n. 08, 2018.

KIM, S. H. *et al.*. *Involvement of protein kinase: a in cannabinoid receptor-mediated protection from oxidative neuronal injury.* **J. Pharmacol. Expp. Ther.**, n. 313, pp. 88-94, 2005.

KIM, S.H. *et al.*. *Molecular mechanisms of cannabinoid protection from neuronal excitotoxicity.* **Mol. Pharmacol.**, n. 69, pp. 691-696, 2006a.

KIM, S.H., *et al.*. *Role for neuronal nitric-oxide synthase in cannabinoid-induced neurogenesis.* **J. Pharmacol. Expp. Ther.**, n. 319, pp. 150-154, 2006b.

KUMMAR, K. *et al.*. *Recent advances in the neurobiology and neuropharmacology of Alzheimer's disease.* **Biomedicine & Pharmacotherapy**, n. 98, pp. 297-307, 2018.

LANE, C. A.; HARDY J.; SCHOTT, J. M.. *Alzheimer's disease.* **European Journal of Neurology**, n. 25, pp. 59-70, 2018.

LAVER, K. *et al.*. *Interventions to delay functional decline in people with dementia: a systematic review of systematic reviews.* **BMJ Open**, v. 06, n. 04, 2016.

LI, L.; HOLSCHER, C.. *Common pathological processes in Alzheimer disease and type 2 diabetes: a review.* **Brain Research Reviews**, n. 56, pp. 384-402, 2007.

LIU, C.S. *et al.*. *Cannabinoids for the treatment of agitation and aggression in Alzheimer's disease.* **CNS Drugs**, n. 29, v. 615, 2015.

LÓPEZ, A.; APARICIO, N.; PAZOS, M. R.. *Cannabinoid CB2 receptors in the mouse brain: relevance for Alzheimer's disease.* **Journal of Neuroinflammation**, n. 15, v. 158, 2018.

LOPEZ-POUSA, S. *et al.*. *Differential efficacy of treatment with acetylcholinesterase inhibitors in patients with mild and moderate Alzheimer's disease over a 6-month period.* **Dement Geriatr Cogn Disord.**, n. 19, pp. 189-195, 2005.

LÓPEZ-POUSA, S. *et al.*. *The effect of donepezil in comparison with conventional treat-*

ment on cognitive functioning and the performance of the patient in a prospective cohort of patients with Alzheimer's disease treated in routine clinical practice in Spain. Rev Neurol., n. 16, v. 51, suppl. 10, pp. 577-588, nov., 2010.

LUCIN, K. M.; WYSS-CORAY, T.. *Immune activation in brain aging and neurodegeneration: too much or too little?. Neuron*, n. 64, october, 2009.

LUNARDI, P. S.. *Effect of huperzine-A on secretion of S100B in primary culture of astrocytes and hippocampal slices. Thesis*, n. 44, 2010.

MAFFIOLETTI, E. *et al.*. *Influence of clotting duration on brain-derived neurotrophic factor (BDNF) dosage in serum. Biofeedback*, v. 57, n. 03, 2014.

MAIDMENT, I. D. *et al.*. *Efficacy of memantine on behavioral and psychological symptoms related to dementia: a systematic meta-analysis. Annals of Pharmacotherapy*, n. 42, v. 01, pp. 32-38, 2008.

MALFITANO, A. M. *et al.*. *Immunomodulatory properties of 1,2-dihydro-4-hydroxy-2-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxamide derivative VL15. Biochimie*, n. 135, pp. 173-180, 2017.

MARCHALANT, Y. *et al.*. *Cannabinoids attenuate the effects of aging upon neuroinflammation and neurogenesis. Neurobiol. Dis.*, n. 34, pp. 300-307, 2009.

MARTÍNEZ-PINILLA, E. *et al.*. *Binding and signaling studies disclose a potential allosteric site for cannabidiol in cannabinoid CB2 receptors. Front Pharmacol.*, n. 08, v. 744, 2017.

MARTÍN-MORENO, A. M. *et al.*. *Prolonged oral cannabinoid administration prevents neuroinflammation, lowers β -amyloid levels and improves cognitive performance in Tg APP 2576 mice. Journal of Neuroinflammation*, n. 09, v. 08, pp. 01-15, 2012.

MARZO, V. Di; DE PETROCELLIS, L.. *Fifty years of "cannabinoid research" and the need for a new nomenclature.* [s.l.: s.n.], 2014.

MATSUDA, L. A., *et al.*. *Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA*. **Nature**, n. 346, pp. 561-564, 1990.

MATSUNAGA, S.; KISHI, T.; IWATA, N.. *Memantine monotherapy for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis*. **PLoS One**, n. 10, v. 04, p. e0123289, abr., 2015.

MAYEUX, R.; YAAKOV S.. *Epidemiology of Alzheimer disease*. **Alzheimer Dis. Assoc. Disord.**, n. 02, v. 08, 2012.

MCEWEN, B. S.; GRAY, J. D.; NASCA, C.. *Recognizing resilience: learning from the effects of stress on the brain*. **Neurobiol Stress**, n. 01, pp. 01-11, 2015.

MCGEER, P. L.; MCGEER E. G.. *The inflammatory response system of brain: implications for therapy of Alzheimer and other neurodegenerative diseases*. **Res. Brain Res. Rev.**, n. 21, pp. 195-218, 1995.

MCKHANN, G. *et al.*. *Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group* under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease*. **Neurology**, n. 34, pp. 939-944, 1984.

MCKHANN, G. *et al.*. *The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease*. **Alzheimer's & Dementia**, n. 07, pp. 263-269, 2011.

MCPARTLAND, J. M.. *Cannabis systematics at the levels of family, genus, and species*. **Cannabis and Cannabinoid Research**, n. 03, n. 01, 2018.

MECHOULAM, R. *et al.*. *Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors*. **Biochem. Pharmacol.**, n. 50, pp. 83-90, 1995.

MECHOULAM, R.; CARLINI, E. A. *Towards drugs derived from Cannabis*. **Naturwissenschaften**, n. 65, pp. 174-179, 1978.

MECHOULAM, R. *et al.*. *Perspectives: early phytocannabinoid chemistry to endocannabinoids and beyond*. **Nature Reviews Neuroscience**, 2014.

MECHOULAM, R.; SHVO, Y.; HASHISH-I. *The structure of cannabidiol: tetrahedron*. **Pergamon Prem Ltd. Printed in Northern Ireland.**, v. 19, pp. 2073-2078, 1963.

MEYER, P-F., TREMBLAY-MERCIER J, LEOUTSAKOS J, MADJAR C, LAFAILLE-MAIGNAN M-É, SAVARD M, ROSA-NETO P, POIRIER J, ETIENNE P, BREITNER J.. *For the PREVENT-AD research group INTREPAD: a randomized trial of naproxen to slow progress of presymptomatic Alzheimer disease*. **Neurology**, n. 92, pp. e2070-2080, 2019.

MINGHETTI, L.. *Role of inflammation in neurodegenerative diseases*. **Curr. Opin. Neurol.**, n. 18, pp. 315-321, 2005.

MOLINA-HOLGADO, F.; LLEDO, A.; GUAZA, C.. *Anandamide suppresses nitric oxide and TNF-alpha responses to theiler's virus or endotoxin in astrocytes*. **Neuroreport**, n. 08, pp. 1929-1933, 1997.

MOLINO, I. *et al.*. *Efficacy of memantine, donepezil, or their association in moderate-severe Alzheimer's disease: a review of clinical trials*. **Scientific World Journal.**, n. 29, v. 925702, out., 2013.

MONTEIRO, A. R. *et al.*. *Alzheimer's disease: Insights and new prospects in disease pathophysiology, biomarkers and disease-modifying drugs*. **Biochemical Pharmacology**, v. 211, may, 2023.

MOREIRA, P. A; STEFANI, F. Y.. *Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer*. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz**, pp. 02-04, 2014.

MUCKE, L.. *Alzheimer's Disease*. **Nature**, n. 461, v. 15, pp. 895-897, 2009.

NAVARRETE, M., ARAQUE, A.. *Endocannabinoids mediate neuron astrocyte communication*. **Neuron**, n. 27, pp. 883-893, 2008.

OKONKWO, O. C. *et al.* Cerebrospinal fluid abnormalities and rate of decline in everyday function across the dementia spectrum: normal aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease. **Arch Neurol.**, n. 67, v. 06, pp. 688-696, jun., 2010.

OLIVEIRA, C.; CRUZ, M.. Anti-amyloid- β monoclonal antibodies: recent therapeutic strategies for Alzheimer's disease. **Rev Port Farmacoter.**, n. 13, pp. 206-218, 2021.

OLIVEIRA, L. J. N. de C.. **Sistema endocanabinoide e neuroproteção no sistema nervoso central**. Dissertação (Mestrado) – PPG-Med (Programa de Pós-Graduação Integrado em Medicina), Universidade de Coimbra, Coimbra/Portugal, 2009.

OSKARSSON, M. E., *et al.* In vivo seeding and cross-seeding of localized amyloidosis: a molecular link between type 2 diabetes and Alzheimer disease. **The American Journal of Pathology**, v. 185, n. 03, mar., 2015.

PAMPLONA, F. A.. Quais são e pra que servem os medicamentos à base de Cannabis?. **Revista da Biologia**, n. 13, v. 01, pp. 28-35, 2014.

PAMPLONA, F. A; COAN, A. C.. Potential clinical benefits of CBD-rich cannabis extracts over purified CBD in treatment-resistant epilepsy: observational data meta-analysis. **BioRxiv**, n. 212662, 2017.

PANZA, F. *et al.* A critical appraisal of amyloid- β -targeting therapies for Alzheimer disease. **Nat Rev Neurol.**, n. 15, pp. 73-88, 2019.

PARSONS, L. H.; HURD, Y. L.. Endocannabinoid signalling in reward and addiction. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 16, n. 10, pp. 579–594, 2015.

PAVA, M. J.; MAKRIYANNIS, A.; LOVINGER, D. M.. Endocannabinoid signaling regulates sleep stability. **PLoS ONE**, v. 11, n. 03, pp. 01-47, 2016.

PENG, J. *et al.* A narrative review of molecular mechanism and therapeutic effect of cannabidiol (CBD). **Basic Clin Pharmacol Toxicol.**, n. 30, pp. 439-456, 2022.

PERTWEE, R.. *Cannabinoid pharmacology: the first 66 years*. **British Journal of Pharmacology**, n. 147, pp. s163-s171, 2006.

PICANÇO, L. C. DOS S. *et al.*. *Alzheimer's disease: a review from the pathophysiology to diagnosis, new perspectives for pharmacological treatment*. **Current Medicinal Chemistry**, n. 25, pp. 3141-3159, 2018.

POVOVA, J. *et al.*. *Epidemiological of and risk factors for Alzheimer's disease : a review*. **Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.**, n. 156, v. 02, pp. 108-114, 2012.

PUFFENBARGER, R. A.; BOOTHE, A. C.; CABRAL, G. A.. *Cannabinoids inhibit LPS-inducible cytokine mRNA expression in rat microglial cells*. **Glia**, n. 29, pp. 58-69, 2000.

RACCHI, M. *et al.*. *Acetylcholinesterase inhibitors: novel activities of old molecules*. **Pharmacol. Res.**, n. 50, v. 04, pp. 441-451, 2004.

RAMIREZ, B. G. *et al.*. *Prevention of Alzheimer's disease pathology by cannabinoids: neuroprotection mediated by blockade of microglial activation*. **Journal of Neuroscience**, n. 25, v. 08, pp. 1904-1913, 2005.

REINES, S. A., *et al.*. *Rofecoxib protocol 091 study group no effect on Alzheimer's disease in a 1-year, randomized, blinded, controlled study*. **Neurology**, n. 62, pp. 66-71, 2004.

REITZ, C.; BRAYNE, C.; MAYEUX, R.. *Epidemiology of Alzheimer disease*. **Nature Reviews Neurology**, n. 07, v. 03, pp. 137-152, 2011.

ROBINSON, M.; LEE, B. Y.; HANE, F. T.. *Recent progress in Alzheimer's disease research, part 2: genetics and epidemiology*. **Journal of Alzheimer's Disease**, n. 57, pp. 317-330, 2017.

RODRIGUEZ, J. J.; MACKIE, K.; PICKEL, V. M.. *Ultrastructural localization of the CB1 cannabinoid receptor in mu-opioid receptor patches of the rat caudate putamen nucleus*. **J.**

Neurosci., n. 21, pp. 823-833, 2001.

RODRÍGUEZ-MUÑOZ, M. *et al.*. *Endocannabinoid control of glutamate NMDA receptors: the therapeutic potential and consequences of dysfunction.* **Oncotarget**, v. 07, n. 34, pp. 55840-55862, 2016.

ROGGERS, S. L. *et al.*. *A 24-week, double-blind, placebo-controlled trial of donepezil in patients with Alzheimer's disease: Donepezil Study Group.* **Neurology.**, n. 50, v. 01, pp. 136-145, jan., 1998.

RONAN, P. J.; WONGNGAMNIT, N.; BERESFORD, T. P. *Molecular mechanisms of cannabis signaling in the brain.* **Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.**, n. 137, pp. 123-147, 2016.

ROSEN, W. G.; MOHS, R. C.; DAVIS, K. L.. *A new rating scale for alzheimer's disease.* **Am J Psychiatry**, n. 141, v. 11, nov., 1984.

ROSS, R. A.. *Allosterism and cannabinoid CB1 receptors: the shape of things to come.* **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 28, n. 11, pp. 567-572, 2007.

RUSSO, E. B.. *Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects.* **British Journal of Pharmacology**, v. 163, pp. 1344-1364, 2011.

RUSSO, E.. *Cannabis therapeutics and the future of neurology.* **Frontiers in Integrative Neuroscience**, v. 12, art. 51, out., 2018.

RUSSO, E. B.. *Clinical endocannabinoid deficiency reconsidered: current research supports the theory in migraine, fibromyalgia, irritable bowel, and other treatment-resistant syndromes.* **Cannabis and Cannabinoid Research**, v. 01, 2016.

RUVER-MARTINS, A. C. *et al.*. *Cannabinoid extract in microdoses ameliorates mnemonic and nonmnemonic Alzheimer's disease symptoms: a case report.* **Journal of Medical Case Reports**, v. 16, n. 01, pp. 01-07, 2022.

SAITO, V. M.; WOTJAK, C. T.; MOREIRA, F. A.. Exploração farmacológica do sistema endocanabinoide: novas perspectivas para o tratamento de transtornos de ansiedade e depressão?. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 32, supl. I, 2010.

SALLOWAY, S. *et al.*. *Amyloid-related imaging abnormalities in 2 phase 3 studies evaluating aducanumab in patients with early Alzheimer disease.* **JAMA Neurol.**, n. 01, v. 79, pp. 13-21, jan., 2022.

SAMPSON, E. L.; JENAGARATNAM, L.; MCSHANE, R.. *Metal protein attenuating compounds for the treatment of Alzheimer's dementia.* **Cochrane Database Syst Rev.**, n. CD005380, 2014.

SARNE, Y.; KEREN, O.. *Are cannabinoids drug neurotoxic or neuroprotective?* **Med Hypotheses**. n. 63, pp. 187-192, 2004.

SARNE, Y. *et al.*. *Reversal of age-related cognitive impairments in mice by an extremely low dose of tetrahydrocannabinol.* **Neurobiology of Aging**, n. 61, v. 177-186, 2018.

SCHNEIDER, L. *et al.*. *Lack of evidence for the efficacy of memantine in mild. Alzheimer disease.* **Arch Neurol.**, n. 68, pp. 991-998, 2011.

SCHNEIDER, L. S.; SANO, M.. *Current Alzheimer's disease clinical trials: methods and placebo outcomes.* **Alzheimer's & Dementia**, n. 05, pp. 388-397, 2009.

SELKOE, D. J.. *A is for amyloid.* **J Prev Alzheimer's Dis.**, n. 14, pp. 140-141, 2020.

SERRANO-POZO, A. *et al.*. *Neuropathological alterations in Alzheimer disease.* **Cold Spring Harb Perspect Med.**, n. 01, p. a006189, 2011.

SEVIGNY, J. *et al.*. *The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer's disease.* **Nature**, n. 537, pp. 550-556, 2016.

SHELEF, A. *et al.*. *Safety and efficacy of medical cannabis oil for behavioral and psycho-*

logical symptoms of dementia: an-open label, add-on, pilot study. **Journal of Alzheimer's Disease**, n. 51, pp. 15-19, 2016.

SHENG, W. S. et al.. Synthetic cannabinoid WIN55,212-2 inhibits generation of inflammatory mediators by IL-1 β -stimulated human astrocytes. **Glia**, n. 49, pp. 211-219, 2005.

SMAIL, G. W. et al.. Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders consensus statement of the American Association for Geriatric Psychiatry, the Alzheimer's Association, and the American Geriatrics Society. **JAMA**, n. 278, pp. 1363-1371, 1997.

SÖDERBERG, L. et al.. Lecanemab, aducanumab, and gantenerumab: binding profiles to different forms of amyloid-beta might explain efficacy and side effects in clinical trials for Alzheimer's disease. **Neurotherapeutics**, 2022.

SONG, J. H.; YU, J. T.; TAN, L.. Brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease: risk, mechanisms, and therapy. **Mol Neurobiol.**, 2014.

STARLING, D. S. V.. **Investigação de biomarcadores diagnósticos para a doença de Alzheimer no líquido cefalorraquidiano, na saliva e na mucosa oral**. Belo Horizonte: UFMG, 2012.

STELLA, N.. Cannabinoid and cannabinoid-like receptors in microglia, astrocytes, and astrocytomas. **Glia**, n. 58, pp. 1017-1030, 2010.

STELZMAM, R. A.; SCHNITZLEIN, H. N.; MURRIGH, F. R.. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde". **Clinical Anatomy**, n. 08, v. 01, pp. 429-443, 1995.

SULIMAN, N. A. et al.. Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ 9-THC) induce neurogenesis and improve cognitive performances of male sprague dawley rats. **Neurotoxicity Research**, n. 33, v. 02, pp. 402-411, 2018.

SUN, X. et al.. Review of Drugs for Alzheimer's Disease. **Drug Discoveries & Therapeutics**, n. 06, v. 06, pp. 285-290, 2011.

TANZ, I R. E.; BERTRAM, L.. *Twenty years of the Alzheimer's disease amyloid hypothesis: a genetic perspective*. **Cell**, n. 120, pp. 545-555, 2005.

TEIXEIRA, J. B. *et al.*. *Doença de Alzheimer : estudo da mortalidade no Brasil, 2000-2009*. **Cad. Saúde Pública**, n. 31, v. 04, pp. 01-12, 2015.

THAM, M. *et al.*. *Allosteric and orthosteric pharmacology of cannabidiol and cannabidiol-dimethylheptyl at the type 1 and type 2 cannabinoid receptors*. **Br J Pharmacol.**, n. 176, v. 10, pp. 1455-1469, 2019.

THOMAS, A. *et al.*. *Cannabidiol displays unexpectedly high potencies as an antagonist of CB1 and CB2 receptor agonists in vitro*. **BrJ Pharmacol.**, n. 150, v. 05, pp. 613-623, 2007.

TOLÓN, R. M. *et al.*. *The activation of cannabinoid CB2 receptors stimulates in situ and in vitro beta-amyloid removal by human macrophages*. **Brain Research**, v. 1283, pp. 148-154, 2009.

TURCOTTE, C. *et al.*. *Regulation of inflammation by cannabinoids, the endocannabinoids 2-arachidonoyl-glycerol and arachidonoyl-ethanolamide, and their metabolites*. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 97, 2015.

VAN DYCK, C. H.. *Anti-amyloid- β monoclonal antibodies for Alzheimer's disease: pitfalls and promise*. **Biol Psychiatry**, n. 83, pp. 311-319, 2018.

VAN DYCK, C. H. *et al.*. *Lecanemab in early Alzheimer's disease*. **N Engl J Med.**, n. 388, v. 01, pp. 09-21, 2023.

VAN DEN ELSEN, G. A. H. *et al.*. *Tetrahydrocannabinol in behavioral disturbances in dementia: a crossover randomized controlled trial*. **The American Journal of Geriatric Psychiatry**, n. 23, v. 12, pp. 1214-1224, 2015.

VERGHESE, P. B.; CASTELLANO, J. M.; HOLTZMAN, D. M.. *Apolipoprotein E in*

Alzheimer's disease and other neurological disorders. Lancet Neurol, n. 10, pp. 241-252, 2011.

WAKSMAN, Y., OLSON, J. M., CARLISLE, S. J., CABRAL, G. A.. *The central cannabinoid receptor (CB1) mediates inhibition of nitric oxide production by rat microglial cells. J. Pharmacol. Expp. Ther.*, n. 288, pp. 1357-1366, 1999.

WALKER, J. M.; HUANG, S. M.. *Cannabinoid analgesia. Pharmacology and Therapeutics*, v. 95, n. 02, pp. 127-135, 2002.

WANG, S. J.. *Cannabinoid CB1 receptor-mediated inhibition of glutamate release from rat hippocampal synaptosomes. Eur. J. Pharmacol.*, n. 469, pp. 47-55, 2003.

WATKINS, B. A.; KIM, J.. *The endocannabinoid system: directing eating behavior and macronutrient metabolism. Frontiers in Psychology Frontiers Research Foundation*, 2014.

WEINSTEIN, J. D.. *A unique and promising combination of medications for the treatment of Alzheimer's disease. Medical Hypotheses*, n. 109, pp. 53-55, 2017.

WESTLAKE, T. M. *et al.*. *Cannabinoid receptor binding and messenger RNA expression in human brain: an in vilt'lw receptor autoradiography and in siifu hybridization histochemistry study of normal aged and Alzheimer's brains. Neuroscience*. [s.l: s.n.],1994.

WIMBLAD, B. *et al.*. *Memantine in moderate to severe Alzheimer's disease: a meta-analysis of randomised clinical trials. Dement Geriatr Cogn Disord.*, n. 24, v. 01, pp. 20-27, 2007.

XIE, S. X. *et al.*. *Rate of decline in Alzheimer's disease measured by a dementia severity rating scale. Alzheimer Dis Assoc Disord.* n. 23, v. 03, pp. 268-274, 2009.

YIANNOPOULOU, K. G.; Papageorgiou, S. G.. *Current and future treatments for Alzheimer's disease. Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, n. 06, v. 01, pp. 19-33, 2013.

YOSHIDA, K. *et al.*. *Personalized prediction of Alzheimer's disease and its treatment effects by Donepezil: an individual participant data meta-analysis of eight randomized controlled trials.* **J Alzheimers Dis.**, n. 89, v. 4, pp. 1143-1157, 2022.

ZHANG, N.; GORDON, M. L.. *Clinical efficacy and safety of donepezil in the treatment of Alzheimer's disease in Chinese patients.* **Clinical Interventions in Aging.** n. 13, pp. 1963-1970, 2018.

ZHUANG, S. Y. *et al.*. *Cannabinoids produce neuroprotection by reducing intracellular calcium release from ryanodine-sensitive stores.* **Neuropharmacology**, n. 48, pp. 1086-1096, 2005.

ZIMMER, R.; LAUTER, H.. *Diagnosis, differential diagnosis and nosologic classification of the dementia syndrome.* **Pharmacopsychiat**, n. 21, pp. 01-07, 1988.

ZUARDI, A. W.. *History of cannabis as a medicine: a review.* **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 28, n. 02, pp. 153-157, 2006.

ZUARDI, A. W.; CRIPPA, J.A. DE S.; GUIMARÃES, F. S.; COLABORADORES. **Cannabis e Saúde Mental**: uma revisão sobre a droga de abuso e o medicamento. 01 ed.. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC-Editora, 2008.

ANEXOS

Anexo A – Termo De Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Título do Projeto: Investigação clínica com microdoses de canabinoides para tratamento da Doença de Alzheimer.

Pesquisador responsável e colaboradores com telefones de contato: Rafael de Moraes Cury (43)999645022, Elton Gomes da Silva (45) 99151 5500 e Francisney Pinto do Nascimento (45) 999333479.

Convidamos, _____, a participar de nossa pesquisa que tem o objetivo de analisar os efeitos terapêuticos de um remédio que tem potencial em causar melhorias na condição de sua doença. Esperamos, com este estudo, ajudar a definir uma possibilidade de tratamento e verificar o potencial terapêutico de uma medicação, uma vez que, até o momento não temos um tratamento eficaz para a Doença de Alzheimer.

A pesquisa é simples, e você precisa apenas tomar a medicação corretamente e comparecer nas datas comunicadas para as avaliações médicas. O tratamento que você irá fazer será apenas tomar a medicação fornecida, via oral, uma vez ao dia, logo antes da última refeição, antes de ir se deitar. A pesquisa terá duração de 180 dias (6 meses). Serão realizadas avaliações clínicas mensais. Além das avaliações clínicas mensais serão realizados 2 coletas de líquido para avaliações laboratoriais, no início e no final da pesquisa, após 6 meses da primeira coleta, os exames serão repetidos.

Para a coleta do líquido será realizado uma punção em região inferior de suas costas, na parte baixa da coluna. Antes do procedimento, não é exigido nenhum preparo especial, a não ser que haja algum problema de coagulação ou o uso de algum medicamento que interfira com a técnica, como é o caso dos anticoagulantes. Você será colocado na posição correta que pode ser ou deitado de lado com os joelhos e a cabeça junto ao peito, ou sentado com a cabeça e a coluna dobradas para frente e com os braços cruzados. De seguida, o médico aplica uma solução para higienizar a região, podendo injetar neste local um medicamento anestésico, para não sentir a picada da agulha. Depois é inserida lentamente entre as vértebras uma fina agulha, por onde será coletado o líquido, sendo recolhido num tubo de ensaio esterilizado. Por fim, a agulha é retirada e é aplicado um curativo no local da picada. Este procedimento dura geralmente alguns minutos, é seguro,

com chances muito reduzidas de apresentar complicações ou riscos. O efeito adverso mais comum que pode ocorrer após uma punção lombar é dor de cabeça temporária devido à diminuição do líquido nos tecidos adjacentes, podendo ocorrer também enjoos e vômitos que podem ser evitados se a pessoa ficar algum tempo deitada depois do exame. Também pode ocorrer dor e desconforto na região lombar que podem ser aliviados com analgésicos receitados pelo médico no momento do procedimento e, embora seja raro, pode ocorrer também infecção ou hemorragia.

Já para a coleta do sangue, será realizado um punção em acesso venoso periférico, ou seja, em veia superficial antecubital no braço de preferência. O profissional identifica e localiza a veia, realiza a higienização da região e insere uma agulha para coletar o sangue e armazená-lo em tubo específico. Após, procedimento realiza-se um curativo. O procedimento é seguro e simples, o mesmo realizado em instituições de saúde nas rotinas de coleta de sangue.

Cabe ressaltar que todas as coletas serão realizadas em local adequado e por profissionais capacitados.

Todas as avaliações e coletas serão realizadas no Campus Jardim Universitário da UNILA, em Foz do Iguaçu, Paraná, onde o Laboratório de Neurofarmacologia Clínica encontra-se alocado. Já o exame EEG será realizado em local informado nos tempos específicos, ainda a definir.

Durante a execução do projeto, embora a dose que você receberá seja bastante menor do que as doses com “efeitos adversos”, você pode apresentar efeitos adversos como sonolência, ansiedade, distúrbios gastrointestinais, dor de cabeça ou efeitos psicoativos. Em caso de constrangimento ou desconforto, pode ser solicitado a qualquer instante o desligamento da pesquisa. Entretanto, o que esperamos são melhoras clínicas significativas, tanto na condição de sua enfermidade, como no seu humor, sono e disposição para suas atividades diárias.

No caso de ocorrer qualquer evento adverso que venha lhe prejudicar os pesquisadores estarão à disposição para auxiliar no que for preciso, inclusive solicitar e encaminhar ao atendimento médico. Desse modo, qualquer eventual necessidade de atendimento médico hospitalar – relacionado ao tratamento deste estudo – não resultará em nenhum custo para o(a) senhor(a), sendo custeado por este projeto. Além disso, você não terá custos com os exames e nem com os deslocamentos até os locais de coleta.

Sua identidade não será divulgada e seus dados serão tratados de maneira sigilosa, sendo seus dados utilizados apenas para fins científicos. Você também não pagará e

nem receberá nenhum valor financeiro pela participação neste estudo. No caso de dúvidas, ou de necessidade relatar algum acontecimento, você pode contatar os pesquisadores pelos telefones mencionados acima ou o Comitê de Ética pelo número (45) 3220-3092.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa - UNIOESTE, pelo protocolo (CAAE) 09713219.9.0000.0107, ou seja, de acordo com as recomendações da Resolução N° 466, do Ministério da Saúde do Brasil.

Este documento será assinado em duas vias, sendo uma delas entregue ao sujeito da pesquisa.

Declaro estar ciente do exposto e desejo participar do projeto, ou autorizo _____ a participar da pesquisa (no caso de responsável por menor ou pessoa considerada legalmente incapaz).

Assinatura do participante ou responsável legal.

Eu, Rafael de Moraes Cury, declaro que forneci todas as informações do projeto ao participante e/ou responsável.

Foz do Iguaçu, _____ de _____ de 20____.

Anexo B – Parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIOESTE - CENTRO DE
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Investigação clínica com microdoses de canabinóides para tratamento da Doença de Alzheimer

Pesquisador: Rafael de Moraes Cury

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 09713219.9.0000.0107

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA INTEGRACAO LATINO-AMERICANA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.306.626

Apresentação do Projeto:

Despacho saneador de pendências

Objetivo da Pesquisa:

Despacho saneador de pendências

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Despacho saneador de pendências

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Despacho saneador de pendências

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Despacho saneador de pendências

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Agora, as informações contidas no TCLE tem boa possibilidade de serem esclarecedoras

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_1297703.pdf	24/04/2019 17:02:37		Aceito

Endereço: RUA UNIVERSITARIA 2009

Bairro: UNIVERSITARIO

UF: PR

Telefone: (45)3220-3092

Município: CASCAVEL

CEP: 85.819-110

E-mail: cep.prppg@unioeste.br

UNIOESTE - CENTRO DE
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 3.308.626

Declaração de Instituição e Infraestrutura	instituicao_510.pdf	24/04/2019 16:58:18	Rafael de Moraes Cury	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	instituicao_466.pdf	24/04/2019 16:57:21	Rafael de Moraes Cury	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_placebo.pdf	24/04/2019 16:47:37	Rafael de Moraes Cury	Aceito
Outros	Carta_ao_CEP.pdf	24/04/2019 16:47:06	Rafael de Moraes Cury	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	24/04/2019 16:46:03	Rafael de Moraes Cury	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	24/04/2019 16:45:18	Rafael de Moraes Cury	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	14/02/2019 23:17:53	Rafael de Moraes Cury	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CASCADEL, 07 de Maio de 2019

Assinado por:
Dartel Ferrari de Lima
(Coordenador(a))

Endereço: RUA UNIVERSITARIA 2089

Bairro: UNIVERSITARIO

CEP: 85.819-110

UF: PR

Município: CASCADEL

Telefone: (45)3220-3092

E-mail: cep.prppg@unioeste.br