

O Potencial Terapêutico dos Agonistas do GLP-1R na Doença de Alzheimer

Therapeutic potential of GLP-1R agonists in the Alzheimer Disease

Cunha S.¹, Ribeiro C.F.², Cruz T.³, Silva S.⁴

ARTIGO ORIGINAL | ORIGINAL ARTICLE

RESUMO

A doença de Alzheimer é a doença neurodegenerativa mais comum e é caracterizada pela deterioração progressiva e irreversível das funções cognitivas. As principais características histopatológicas da doença de Alzheimer compreendem a presença de placas amiloides extracelulares e de emaranhados neurofibrilares intracelulares. Apesar do conhecimento sobre a doença ser cada vez maior, ainda carece de uma terapêutica eficaz e capaz de reverter ou, até mesmo, retardar a progressão da doença, constituindo assim um desafio para a investigação científica e ganhando impulso nas últimas décadas. Estudos epidemiológicos sugerem que a diabetes *mellitus* tipo 2 constitui um fator de risco para o desenvolvimento da doença de Alzheimer, provavelmente devido à disfunção da sinalização da insulina e insulinoresistência nos tecidos cerebrais. Nesta perspetiva, tem sido recentemente sugerido que medicamentos originalmente desenvolvidos para o tratamento da diabetes *mellitus* tipo 2 constituam uma abordagem terapêutica eficiente contra o desenvolvimento da doença de Alzheimer. Um crescente número de estudos pré-clínicos sugere que os agonistas do recetor do peptídeo 1 semelhante ao glucagon (*glucagon-like peptide-1*, GLP-1), como o exenatido, o liraglutido e o lixisenatido, sejam potenciais fármacos na terapêutica da doença de Alzheimer.

Assim, o presente artigo pretende rever o papel da insulina na doença de Alzheimer e analisar de que forma os agonistas do recetor do GLP-1 podem constituir um potencial terapêutico prevenindo a progressão da patologia.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer, diabetes *mellitus* tipo 2, insulina, agonistas do recetor do peptídeo 1 semelhante ao glucagon, neuroprotecção, placas amiloides, emaranhados neurofibrilares.

ABSTRACT

Alzheimer's disease is the most common of progressive disorders and is characterized by progressive and irreversible memory loss and cognitive impairments. The two main histological hallmarks of Alzheimer's disease include extracellular amyloid plaques and intracellular neurofibrillary tangles. Although the knowledge of the disease is now greater there is still lack of effective therapeutics, able to reverse or even delay the advance of the disease, thus constituting a challenge to the scientific investigation and gaining momentum in the last decades.

Epidemiological studies have recently discovered that type 2 diabetes mellitus has been identified as a risk factor for developing Alzheimer's disease, most likely linked to an impairment of insulin in the brain. In view of the similarities and close association between Alzheimer's disease and defective brain insulin signalling it has been recently hypothesized that efficient drugs against type 2 diabetes mellitus could be also a beneficial therapeutic strategy against Alzheimer's disease. There is mounting experimental evidence that glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonists, including exenatide, liraglutide, lixisenatide ameliorate show promise as potential drug treatments of Alzheimer's disease. Thus, the present article aims to review the role of insulin in Alzheimer's disease and to analyze how GLP-1 receptor agonists may constitute a therapeutic potential preventing the progression of the disease.

Keywords: Alzheimer's disease, Type 2 diabetes mellitus, insulin; glucagon-like peptide-1receptor agonists, neuroprotection, amyloid plaque, neurofibrillary tangles.

¹ Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

² Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra e Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCIBR), Faculdade de Medicina de Coimbra, Coimbra, Portugal.

³ Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e Centro de Neurociências e Biologia Celular da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

⁴ Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCIBR), Faculdade de Medicina de Coimbra, Coimbra, Portugal.

Autora para correspondência: Sónia Alexandra Silva; Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Polo das Ciências da Saúde, Azinhaga de Santa Comba, 3000-548 Coimbra, Portugal. Tel.: +351 239 488400; Email: sonias@ci.uc.pt.

Submetido/Submitted: 20 abril 2020 | Aceite/Accepted: 27 abril 2020

INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (*Alzheimer's disease*, AD) é a doença neurodegenerativa mais comum e é caracterizada pela deterioração progressiva e irreversível das funções cognitivas, manifestando-se essencialmente pela perda de memória e por alterações no comportamento, na personalidade e na capacidade funcional do doente¹⁻³. Esta é a forma de demência mais relevante na população idosa afetando cerca de 45 milhões de pessoas em todo o mundo e é expectável que se torne mais prevalente nas próximas décadas, uma vez que ainda não existe nenhuma terapêutica eficaz e capaz de reverter ou, até mesmo, retardar a progressão da doença paralelamente ao envelhecimento progressivo da população⁴⁻⁶. Apesar de ter sido identificada há mais de cem anos, a AD ainda constitui um desafio para a comunidade médica e científica, tendo sido alvo de intensa investigação nas últimas décadas³.

Estudos epidemiológicos sugerem que o aumento da incidência de AD se deve também a uma das condições mais prevalentes na população, a diabetes mellitus tipo 2 (*type 2 diabetes mellitus*, T2DM), uma doença crónica que resulta da degeneração progressiva e seletiva das células β do pâncreas^{7,8}. A AD e a T2DM são dois graves problemas de saúde pública e a principal causa de morbilidade e mortalidade na população idosa^{5-7,9}. A T2DM é uma desordem metabólica de etiologia múltipla e fisiopatologia complexa caracterizada pela resistência à insulina, deficiência na secreção de insulina pelas células β dos ilhéus de Langerhans do pâncreas, excesso reativo de glucagon e excessiva produção hepática de glucose^{5,10-12}.

A T2DM constitui um fator de risco para o desenvolvimento da AD^{13,15}. Preconiza-se, assim, que a resistência à insulina e a disfunção da sinalização mediada pela insulina desencadeiam o desenvolvimento da AD^{5,15,16}.

As inúmeras ligações moleculares e celulares entre as duas doenças suscitam o *repurposing* de fármacos para o tratamento da AD, originalmente desenvolvidos para o tratamento da T2DM^{5,17}.

A estratégia mais recente para o tratamento da T2DM consiste no efeito incretina mimetizado pelos agonistas do recetor do peptídeo 1 semelhante ao glucagon (*glucagon-like peptide-1*, GLP-1), incretina responsável pela regulação dos níveis de glucose ao estimular a secreção de insulina dependente de glucose e diminuição da secreção de glucagon^{17,18}.

Assim, o presente artigo pretende rever o papel da insulina na AD, bem como analisar as mais recentes evidências científicas sobre a potencial utilização de agonistas do recetor do GLP-1 (*glucagon-like peptide-1 receptor*, GLP-1R) no tratamento desta doença, cujo papel no cérebro tem ganho um crescente interesse devido à sua associação com a sinalização da insulina.

A doença de Alzheimer

A AD é essencialmente caracterizada pela perda progressiva das funções cognitivas^{19,1}. Contudo, à medida que a doença evolui surgem sintomas debilitantes independentes da função cognitiva que afetam o sono e o apetite e alterações neuropsiquiátricas, como a depressão e a apatia, entre outros¹⁹.

A AD é uma doença fatal e multifatorial influenciada pela predisposição genética e por fatores ambientais¹⁰. Embora a

grande maioria da população afetada por esta doença desenvolva os sintomas com idade avançada, após os 65 anos, existem casos invulgares em que a doença se manifesta mais precocemente^{20,21}.

As principais características histopatológicas da AD compreendem a presença de placas amiloides extracelulares e de emaranhados neurofibrilares (*neurofibrillary tangles*, NFTs) intracelulares^{10,20,22}. O declínio das funções cognitivas é acompanhado por alterações bioquímicas e estruturais que ocorrem no cérebro, levando à perda neuronal, à degeneração das sinapses, ao comprometimento da neurotransmissão e à atrofia cerebral, particularmente no hipocampo e no córtex²³.

As placas amiloides são estruturas complexas definidas pela presença da proteína β -amilóide (*amyloid- β peptide*, A β) que se localizam no hipocampo e córtex cerebral e estão relacionadas com o início e o desenvolvimento da AD^{19,24}. A forma A β solúvel é um peptídeo que deriva da clivagem proteolítica da proteína precursora amilóide (*amyloid protein precursor*, APP) pela α -secretase (*nonneurotoxic "normal" cleavage*) ou β -secretase (*potential neurotoxic "abnormal" cleavage*) e uma segunda clivagem por sua vez pela γ -secretase, do fragmento resultante da β -secretase, origina fragmentos com 40 ou 42 aminoácidos^{25,26}. O peptídeo A β 40 promove a proliferação neuronal e a plasticidade sináptica enquanto que o A β 42, que difere em dois resíduos de aminoácidos adicionais no terminal C, por ser menos abundante e mais propenso a agregar, origina as placas amiloides²⁵. Os oligómeros solúveis constituídos por 42 aminoácidos, também conhecidos como *A β -derived diffusible*

ligands (ADDLs) possuem, por si só, propriedades neurotóxicas no sistema nervoso central (SNC), desempenhando um papel fulcral na patogénese da AD²⁷. Os ADDLs comprometem a neurotransmissão, induzindo a perda neuronal e sináptica, afetando, assim, a perda progressiva da memória^{19,24}. Estes oligómeros promovem ainda a hiperfosforilação da tau, uma proteína axonal que mantém a estabilidade e a polimerização da microtubulina, sendo este processo mediado pela cinase- 3β da sintase do glicogénio (*glycogen synthase kinase-3 β* , GSK3 β)^{19,10,28}.

A hiperfosforilação e agregação da proteína tau reduzem a capacidade de estabilização dos microtúbulos, comprometendo a dinâmica microtubular, essencial para a preservação da morfologia e da função da célula nervosa, afetando o transporte axonal, necessários para a manutenção da homeostasia neuronal. A hiperfosforilação da tau favorece a formação de NFTs no córtex cerebral e, conseqüentemente, a apoptose e morte neuronal, contribuindo para o desenvolvimento da AD^{21,3,29}.

Tendo em conta que o aparecimento e a progressão clínica da doença estão relacionados com a acumulação de placas amiloides e de NFTs, é expectável que o desenvolvimento de terapêuticas que visam inibir a formação e modificação das proteínas constituintes desses agregados neurotóxicos constitua uma estratégia terapêutica racional para o tratamento da AD^{21,6}.

A insulina e o sistema nervoso central

A insulina é uma hormona endócrina essencial na manutenção da homeostasia

da glucose^{30,31}.

Até à década de 70, a insulina era considerada apenas como uma hormona periférica produzida e segregada pelas células β do pâncreas, incapaz de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) e de afetar o SNC³². Em 1978, estudos em murganhos demonstraram que as concentrações de insulina nos tecidos cerebrais ultrapassavam os níveis periféricos de insulina e que os recetores de insulina (*insulin receptor*, IR) estavam amplamente distribuídos no SNC^{33,34}. Desde então, tem-se demonstrado que a atividade cerebral pode ser influenciada pela insulina maioritariamente produzida pelas células β do pâncreas, atravessando a BHE através de um mecanismo de transporte mediado por transportadores, e pela insulina produzida pelos neurónios piramidais presentes no hipocampo e no córtex prefrontal e entorrinal^{32,33}. Alternativamente, a insulina periférica pode aceder ao SNC através da área postrema, uma área circunventricular, onde a BHE é mais permeável³².

Para além da insulina regular a homeostasia da glucose, atua como um fator de crescimento para todas as células, incluindo os neurónios, regulando a mitogénese, diferenciação e crescimento³⁰. Similarmente à insulina, o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (*insulin-like growth factor-1*, IGF-1) também se encontra presente no cérebro e atravessa a BHE³².

A insulina liga-se aos IR que pertencem à classe de recetores tirosina cinase, que se encontram dispersos por todo o SNC, sendo particularmente abundantes nos neurónios do hipotálamo, hipocampo, córtex cerebral e bulbo olfatório^{10,12,31,33}. A insulina produzida durante a atividade neuronal liga-se à subunidade α do IR e

ativa a tirosina cinase da subunidade β , estimulando a auto-fosforilação do seu recetor^{35,31}. Os IRs fosforilados fosforilam por sua vez os respetivos substratos 1 e 2 (*IRs substrate-1 e -2*, *IRS-1 e IRS-2*) desencadeando a ativação da via fosfatidilinositol-3-cinase (*phosphatidylinositol 3-kinase*, *PI3K*) (Figura 1)^{10,35}.

A ligação da PI3K aos IRS-1 e IRS-2 re-

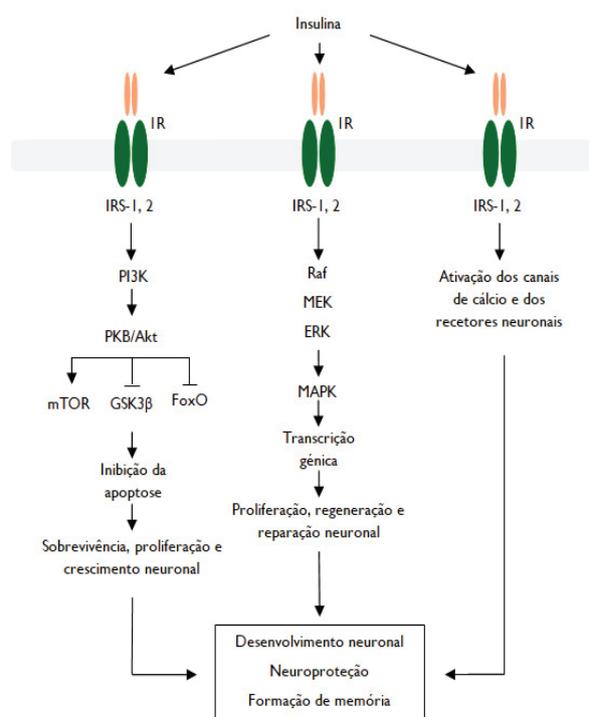


Figura 1. Vias de sinalização celular da insulina nas células nervosas. *Akt/PKB*, *protein kinase B*; *ERK*, *extracellular signal regulated kinase*; *FoxO*, *Forkhead box O*; *IR*, *insulin receptor*; *IRS-1, 2*, *insulin receptor substrate-1, -2*; *MAPK*, *mitogen-activated protein kinase*; *MEK* *mitogen-activated protein kinase kinase*; *mTOR*, *mammalian target of rapamycin*; *PI3K*, *phosphatidylinositol 3-kinase*; *Raf*, *proto-oncogene serine/threonine-protein kinase*. Adaptado de Hölischer C, 2014 & Blázquez E, 2014.

cruta a proteína cinase B (*protein kinase B*, *PKB* ou *Akt*) para a membrana, onde é fosforilada e ativada por proteínas cinases específicas (*phosphoinositide dependent kinase 1* ou *PDK1* e a *mammalian tar-*

get of rapamycin C2 ou mTORC2)^{10,29}. A PKB/Akt fosforila e ativa diversos substratos, nomeadamente a mTOR, que também atua como um regulador de sobrevivência e crescimento celular^{36,37}. A PKB/Akt encontra-se ainda envolvida na proliferação, crescimento e sobrevivência celular através da inibição de agentes pró-apoptóticos como a GSK3 β e a FoxO (*Forkhead box O*), protegendo assim a atividade neuronal^{10,12,29}.

A cascata da proteína cinase ativada por mitogénio (*mitogen-activated protein kinase*, MAPK) é outra via de sinalização mediada pela insulina, que envolve a ativação da proteína Ras^{29,31}. Consequentemente, a proteína Ras ativa a Raf cinase (*proto-oncogene serine/threonine-protein kinase*) que fosforila a MEK (*mitogen-activated protein kinase kinase*), que ativa a ERK (*extracellular signal regulated kinase*), induzindo a expressão genética e a proliferação, regeneração e reparação neuronal³⁵. A insulina influencia ainda a plasticidade neuronal através da atividade dos recetores glutamatérgicos AMPA (*amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid*, α -amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico) e NMDA (*N-methyl-D-aspartate*, N-metil-D-aspartato) e dos recetores do GABA (*γ -aminobutyric acid*, ácido γ -aminobutírico)^{10,30}. Os recetores NMDA são fosforilados e os canais de cálcio ativados, potenciando a libertação de neurotransmissores devido ao aumento intracelular de cálcio reforçando a transmissão do sinal entre as células nervosas, a denominada potenciação de longa duração (*long-term potentiation*, LTP)³⁸. A sinalização do IR potencia ainda a depressão de longa duração (*long-term depression*, LTD) compensatória diminu-

indo os recetores AMPA na membrana pós-sináptica^{17,45}. A insulina afeta ainda os processos de memória e de aprendizagem através do recrutamento de recetores gabaérgicos para os neurónios pós-sinápticos^{31,35,38}. Esta hormona ativa ainda os canais potássio dependentes de ATP (*adenosine triphosphate-sensitive potassium channels*, K_{ATP}), provocando uma hiperpolarização da membrana e conseqüente efeito inibitório, além de estimular a bomba Na⁺/K⁺ ATPase, conduzindo ao aumento intracelular de cálcio e desencadeando a libertação de neuropeptídeos, para além de estimular a respetiva síntese através da captação de aminoácidos³⁵.

Como os IR se expressam em maior densidade nas regiões do cérebro relacionadas com as funções cognitivas, hipocampo e córtex, igualmente enriquecidos em insulina, é incontestável a associação entre aquelas e a insulina³².

Vários estudos científicos indicam que a sinalização da insulina e do IGF no cérebro controla diversas atividades cerebrais incluindo a preservação das funções cognitivas, os processos de aprendizagem e memória, através das suas capacidades neuromoduladoras, neuroprotetoras e neuroendócrinas, estando implicada na regulação do metabolismo energético, na regeneração, proliferação e sobrevivência neuronal, na inibição da apoptose neuronal e na integridade estrutural e funcional das sinapses do SNC^{10,12,30,39}.

A insulina, a diabetes *mellitus* tipo 2 e a doença de Alzheimer

A crescente evidência científica sugere que a resistência à insulina e a diminuição da sinalização mediada pela

insulina, características da T2DM, poderão culminar no desenvolvimento e progressão da AD (Figura 2)^{16,23,24,40}. Com efeito a AD e a T2DM serão duas patologias interrelacionadas^{5,10} com inúmeras similaridades moleculares e celulares, sendo a AD por vezes referida como “diabetes tipo 3” ou “diabetes tipo 2 específica do cérebro”^{10,12,24,40}.

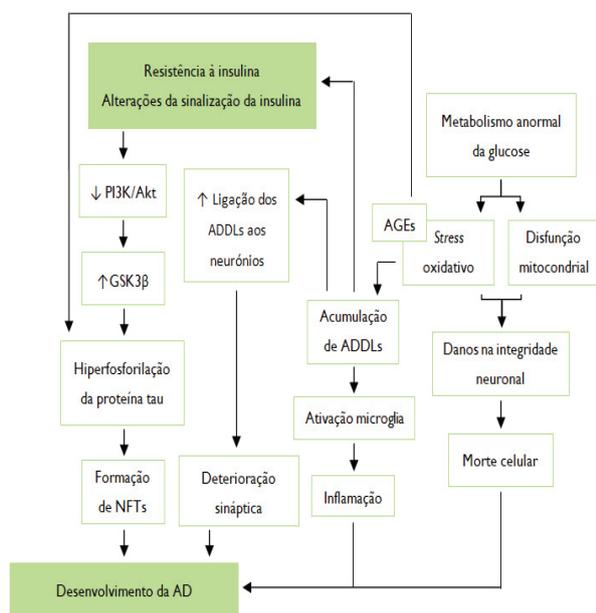


Figura 2. Associação entre as características da diabetes mellitus tipo 2, resistência à insulina e alterações da sinalização mediada pela insulina, e o desenvolvimento e progressão da doença de Alzheimer. AD, Alzheimer's disease; ADDLs, β -amiloid-derived diffusible ligands; AGEs, advanced glycation end products; GSK3 β , glycogen synthase kinase-3 β ; NFTs, neurofibrillary tangles; PI3K/Akt, phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B. Adaptado de Blázquez E, 2014.

Como a associação entre a AD e T2DM é complexa, para se tentar estabelecer a interação entre as duas, torna-se crucial investigar se a insulinoresistência e a diminuição da sinalização mediada pela insulina potenciam as características neuropatológicas da AD¹⁰. Com este

objetivo, alguns estudos têm-se focado na enzima de degradação da insulina (*insulin-degrading enzyme*, IDE), igualmente responsável pela degradação do peptídeo A β nos neurónios^{29,35}. A dessensibilização dos IR promove um aumento dos níveis de insulina que compete com o peptídeo A β para a IDE e, conseqüentemente, fomenta o aumento dos níveis de ADDLs e a sua acumulação em placas amiloides¹². O ADDL extracelular ligando-se aos IR, inibe a sinalização mediada pela insulina e, por sua vez, o ADDL intracelular inibe a via PI3K/Akt, essencial à proliferação, crescimento e sobrevivência das células nervosas³⁹. Ao inibir-se a cascata de sinalização mediada pela PI3K, a GSK3 β é ativada e promove a hiperfosforilação da proteína tau, bem como a formação de ADDLs, uma vez que medeia o aumento de atividade da presenilina-1 (PS-1) que determina por sua vez a atividade da γ -secretase^{12,23}.

A inflamação crónica é uma característica importante da T2DM e da AD e desempenha um papel fulcral na patogénese de ambas as doenças, contribuindo para a insulinoresistência^{12,35}. Os mediadores inflamatórios presentes nos tecidos periféricos como o fator de necrose tumoral α (*tumor necrosis factor α* , TNF α), interleucina 6 (interleukin 6, IL-6) e IL-1 β também se encontram elevados nos tecidos cerebrais de doentes com AD²⁴. A sobreexpressão destas citocinas pró-inflamatórias medeia o processamento da APP, facilitando a sua clivagem e produzindo o peptídeo A β ¹².

Na T2DM o TNF α ativa a cinase c-Jun N-terminal (*c-Jun N-terminal kinase*, JNK), que sendo uma serina cinase fosforila o IRS-1 nos resíduos de aminoácidos de

serina e não de tirosina, interrompendo a sinalização mediada pela insulina. Do mesmo modo, os ADDLs ativam o processo TNF α /JNK nos neurónios do hipocampo^{24,41}.

Na presença de hiperglicemia crónica, num tecido não insulino-dependente como é o cérebro, poderá ocorrer a ativação de vias alternativas de metabolismo da glucose que culminam com a formação de espécies reativas de oxigénio e de nitrogénio, produzidos em excesso na cadeia eletrónica mitocondrial. Quer na T2DM, quer na AD, a formação de radicais livres em excesso, por si só, causa danos na integridade neuronal e pode conduzir à morte celular^{12,29,42}. A disfunção mitocondrial e o *stress* oxidativo promovem a acumulação de oligómeros neurotóxicos de A β e de NFTs que, concomitantemente com a ativação da microglia pelas placas amiloides, leva à libertação de neurotoxinas e citocinas que contribuem para a neuroinflamação da AD^{12,29}.

O metabolismo anormal da glucose, por outro lado, através da formação de produtos de glicação avançada (*advanced glycation end products*, AGEs), induz a agregação dos oligómeros A β e a glicação da proteína tau, contribuindo para a neurotoxicidade observada na AD¹⁰.

O glucagon-like peptide-1 e o sistema nervoso central

As incretinas são hormonas produzidas no intestino e são responsáveis pela regulação dos níveis de glucose pós-prandial ao induzirem a secreção de insulina dependente de glucose e suprimirem a secreção de glucagon^{43,44}. No Homem existem duas incretinas importantes, o peptídeo insulínico dependente de

glucose (*glucose dependent insulinotropic polypeptide*, GIP) e o GLP-1⁴⁵. O GLP-1 é produzido pelas células enteroendócrinas L da porção distal do jejuno, íleo e cólon^{43,45,46}.

O GLP-1, cujo precursor é o proglucagon, é sintetizado primeiramente na sua forma inativa com 37 aminoácidos (GLP-1₁₋₃₇) com uma molécula de glicina no seu terminal carboxílico⁴⁵. As formas bioativas do GLP-1, o GLP-1₇₋₃₇ e o GLP-16-37, são formadas por ação da pro-hormona convertase 1/3 (*pro-hormone convertase* 1/3, PC1/3) no GLP-1₁₋₃₇, removendo seis aminoácidos do terminal amina^{43,45,47}. O GLP-1₇₋₃₇ é o peptídeo ativo mais abundante no plasma humano, e é comumente referido apenas como GLP-1⁴⁸.

A secreção da hormona GLP-1 encontra-se fortemente relacionada com a ingestão de alimentos e compreende essencialmente duas fases: na primeira fase a concentração de GLP-1 aumenta 10-15 minutos após a ingestão de alimentos; a segunda fase de secreção inicia-se após 30-60 minutos^{43,44,48}. A fase inicial é mediada indiretamente pela ativação dos terminais nervosos sensoriais vagais da parede gastrointestinal^{45,49}. A secreção de GLP-1 numa segunda fase resulta do contato direto entre os nutrientes ingeridos e as células enteroendócrinas^{43,46}.

A rápida metabolização do GLP-1 pela aminopeptidase dipeptidil peptidase 4 (*dipeptidyl peptidase-4*, DPP4) origina os metabolitos inativos GLP-1₉₋₃₆ e GLP-1₉₋₃₇, e as ações do GLP-1 endógeno ficam altamente limitadas pela sua curta semi-vida, de aproximadamente, 2 minutos^{18,44,49,50}.

A produção de GLP-1 diminui os níveis

de glucose pela estimulação da secreção de insulina e inibição da secreção de glucagon pelas células β e α do pâncreas, respetivamente^{33,47}. A secreção de insulina induzida pelo GLP-1 é interrompida quando os níveis de glucose retornam aos valores normais⁴³. O GLP-1 exerce a sua ação insulino-

tópica através de um recetor acoplado à proteína G (Figura 3)⁴³. O GLP-1R não se localiza exclusivamente nas células pancreáticas, mas também se encontra no SNC, mais especificamente nos dendritos e corpos celulares dos neurónios piramidais do hipocampo e do neocórtex^{17,33}. A cascata de sinalização

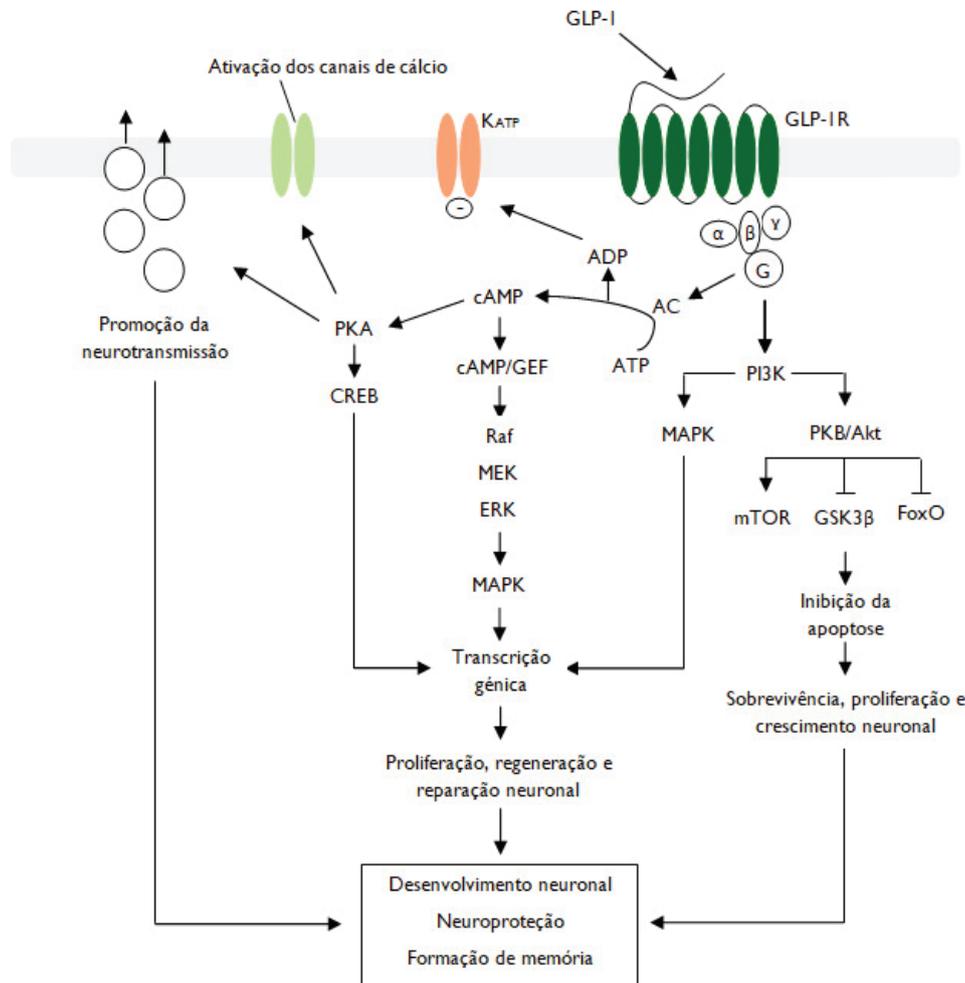


Figura 3. Vias de sinalização celular do peptídeo 1 semelhante ao glucagon nas células nervosas. AC, adenyl ciclase; ADP, adenosine diphosphate; Akt/PKB, protein kinase B; ATP, adenosine triphosphate; cAMP, cyclic adenosine monophosphate; cAMP/GEF, cAMP-regulated guanine nucleotide exchange factor; CREB, cAMP response element-binding protein; ERK, extracellular signal regulated kinase; FoxO, Forkhead box O; G, protein G; GLP-1, glucagon-like peptide-1; GLP-1R, GLP-1 receptor; K_{ATP} , ATP-sensitive potassium channels; MAPK, mitogen-activated protein kinase; MEK, Mitogen-activated protein kinase kinase; mTOR, mammalian target of rapamycin; PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase; PKA, protein kinase A; Raf, proto-oncogene serine/threonine-protein kinase. Adaptado de Hölscher C, 2014.

intracelular inicia-se com a ativação da adenilciclase (*adenylcyclase*, AC) e a formação de monofosfato cíclico de adenosina (*cyclic adenosine monophosphate*, cAMP) a partir de ATP^{33,48}. O aumento intracelular de cAMP culmina na ativação de uma serina/treonina cinase, a proteína cinase A (*protein kinase A*, PKA) e do *cAMP-regulated guanine nucleotide exchange factor* (cAMP/GEF), quando a via PKA se encontra saturada⁵⁰.

A atividade da PKA potencia a libertação de neurotransmissores na fenda sináptica e estimula a LTP nos neurónios^{31,33}. A ativação daquela enzima regula ainda a transcrição genética e a plasticidade neuronal através da fosforilação do *cAMP response element-binding protein* (CREB)^{48,51}. A PKA e a adenosina difosfato (*adenosine diphosphate*, ADP) produzido pela AC durante a produção de cAMP encerram os canais de K_{ATP} , originando a despolarização da membrana neuronal, o que promove a abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem e consequente exocitose de neurotransmissores por aumento da concentração intracelular de cálcio^{31,33}. Por outro lado, o cAMP ativa a cascata cAMP/GEF e consequentemente a MAPK, através da ativação da Raf cinase que fosforila a MEK e ativa a ERK, induzindo a expressão genética e a proliferação, reparação e regeneração neuronal³³.

O GLP-1R pode ainda atuar por uma via independente da ativação da AC, aumentando a concentração do PI3K que também pode conduzir à ativação da MAPK³¹. Por sua vez, o PI3K também está envolvido na ativação da PKB/Akt que ativa a mTOR, fosforila a FoxO e inibe a atividade da GSK3 β , exercendo uma ação anti-apoptótica que promove a

proliferação e sobrevivência neuronal³³. Pelo descrito torna-se evidente que as cascatas de sinalização mediadas pelo GLP-1R são comuns às da insulina e proporcionam igualmente a proteção neuronal favorecendo os processos de formação de memória⁵¹.

Os agonistas do recetor do *glucagon-like peptide-1* e a doença de Alzheimer

A elevada prevalência da AD e da T2DM na população idosa, em conjunto com a forte interação entre as duas patologias e a sinalização da insulina, tem incentivado a procura de estratégias terapêuticas capazes de retardar a progressão da AD, inicialmente desenvolvidas para o tratamento da T2DM^{5,18}. Assim, tem sido recentemente sugerido que fármacos agonistas do GLP-1R, como o exenatido, o liraglutido e o lixisenatido, que constituem uma abordagem terapêutica eficiente contra a T2DM, constituam igualmente estratégias terapêuticas eficazes na AD^{33,46}.

O exenatido, aprovado pela Agência Europeia do Medicamento (*European Medicines Agency*, EMA) em 2006 para o tratamento da T2DM, é um análogo sintético do *exendin-4* extraído da saliva do lagarto *Gila monster*, e a sua sequência de aminoácidos apresenta 53% de homologia relativamente do GLP-1 humano^{18,52}. A presença de um aminoácido de glicina na segunda posição da sequência de 39 aminoácidos torna-o resistente à ação da DPP4 e proporciona uma semi-vida de 1-2 horas^{37,45}.

Em 2009, a EMA aprovou o segundo fármaco incretinomimético, o liraglutido, que apresenta 97% de homologia com o GLP-1 endógeno, uma vez que apenas

um aminoácido de lisina na posição 28 foi substituído pelo aminoácido arginina e acrescentada uma cadeia de ácido palmítico na posição 26, conferindo-lhe resistência à DPP4 e uma semi-vida de 13 horas^{18,52}.

O lixisenatido, aprovado pela EMA em 2013 para o tratamento da T2DM, é um peptídeo similar ao exenatido diferindo apenas na adição de seis aminoácidos de lisina na posição terminal e na remoção de um aminoácido de prolina, permitindo-lhe suportar a degradação fisiológica da DPP4 e ter uma semi-vida de 2-3 horas^{33,52}.

A ação dos fármacos incretinomiméticos passa pela interação específica com o GLP-1R e o seu mecanismo de ação envolve as vias de sinalização de forma similar ao GLP-1 endógeno^{18,46}. Assim, os agonistas do GLP-1R promovem a secreção de insulina de uma forma dependente da glucose, ou seja, apenas quando a glicemia se encontra aumentada e não em caso de normoglicemia, o que limita o risco de hipoglicémia e torna segura a sua administração em doentes não diabéticos⁵³. Os agonistas do GLP-1R são mais resistentes à degradação pela DPP4 comparativamente ao GLP-1 endógeno e possuem ainda a capacidade de atravessar a BHE e aceder ao SNC^{17,53}.

Vários ensaios pré-clínicos foram realizados para averiguar os potenciais efeitos terapêuticos dos agonistas do GLP-1R na AD com resultados promissores (Tabela 1).

No modelo triplo transgênico para a AD (*triple transgenic AD*, 3xTg-AD), que integra genes humanos mutados codificadores de APP, PS-1 e de proteína tau no genoma de murganhos, desenvol-

vendo assim placas amiloides e NFTs, a administração de exenatido exibiu propriedades neuroprotetoras diminuindo a acumulação do peptídeo A β e a fosforilação da proteína tau⁷. Outros modelos experimentais de AD, induzida por estreptozotocina (*streptozotocin*, STZ), uma toxina que seletivamente destrói as células sintetizadoras de insulina em murganhos, revelaram que a administração de exenatido previne e reverte a hiperfosforilação da proteína tau devido à restauração da via de sinalização da insulina, que se reflete no aumento da atividade da via PI3K/Akt e na diminuição na atividade da GSK3 β ^{54,55}. O mesmo modelo indica que a exposição a este agonista oferece benefícios sobre o desempenho cognitivo e a viabilidade das células nervosas no hipocampo, diminuindo os níveis de TNF α , suprimindo a resposta inflamatória e aumentando a atividade colinérgica⁵⁶.

Os efeitos da administração de liraglutido também foram avaliados em ensaios pré-clínicos com modelos animais de AD induzida por STZ, concluindo que este fármaco diminui a hiperfosforilação da proteína tau através da O-glicação desta proteína do citoesqueleto neuronal, ativando a via de sinalização JNK e ERK, com redução da degeneração neuronal e aumento dos processos de memória e de aprendizagem⁵⁷.

A administração de liraglutido em modelos transgênicos de AD, APP/PS-1, em murganhos e também em primatas não humanos evidenciou as suas características neuroprotetoras, impedindo a perda neuronal e de recetores de insulina nos tecidos cerebrais, promovendo a neurogênese e protegendo a integridade das sinapses, nomeadamente

a plasticidade sináptica no hipocampo⁵⁸⁻⁶¹. O liraglutido reverteu a perda de memória e reduziu a placa amiloide bem como a inflamação crónica^{58,59}. Assim, este incretinomimético demonstrou que não possui apenas propriedades preventivas, podendo ainda reverter algumas das principais características patológicas da AD^{59,62}. Num modelo transgênico induzido apenas por um gene mutante da proteína tau em murganhos, apresentando apenas hiperfosforilação da proteína tau e formação de NFTs, o liraglutido exibiu uma redução significativa destes eventos⁶.

Quando os murganhos são expostos à administração de peptídeo A β no hipocampo, o liraglutido e o lixisenatido diminuíram os níveis de A β , aumentando ainda a memória espacial e o reconhecimento de objetos e promoveram a plasticidade sináptica^{1,2}. O lixisenatido demonstrou impedir especificamente, pela via de sinalização PI3K/Akt/GSK3 β , a ação prejudicial do peptídeo A β ². O lixisenatido também demonstrou efeitos neuroprotetores num modelo duplo transgênico APP/PS-1 e a sua administração crónica revelou aumentar o número de sinapses, manteve a integridade sináptica, diminuiu os processos inflamatórios e a acumulação de placas amiloides, promovendo e protegendo os processos de memória contra os efeitos prejudiciais do peptídeo A β ⁶³. No mo-

delo 3xTg-AD de murganhos, as placas amiloides, os NFTs e a neuroinflamação no hipocampo diminuíram após administração do lixisenatido, através da ativação da via de sinalização PKA/CREB³.

O primeiro ensaio clínico duplamente oculto, randomizado por placebo e controlado avaliou, durante 26 semanas, o efeito da administração de liraglutido nas principais características clínicas da AD, nomeadamente no metabolismo da glucose, na acumulação de peptídeo A β e nas funções cognitivas, em 38 adultos não diabéticos, do género masculino e feminino que sofriam de AD⁶⁴. Contudo, este estudo revelou-se insuficiente para concluir sobre o efeito do liraglutido na diminuição da placa amiloide e no melhoramento das capacidades cognitivas; apenas demonstrou impedir o declínio do metabolismo da glucose relacionada com a disfunção sináptica e com o desenvolvimento da AD⁶⁴.

Atualmente estão a decorrer ensaios clínicos em doentes com AD e não diabéticos para investigar a ação dos agonistas do GLP-1R. O ensaio clínico com o registo NCT01843075 no site www.clinicaltrials.gov avalia o efeito do liraglutido numa população de 206 doentes durante 12 meses, enquanto o efeito do exenatido é avaliado durante 18 meses em 57 doentes, e espera-se que os seus resultados sejam publicados brevemente.

Tabela 1. Ensaios pré-clínicos realizados em diversos modelos transgênicos da doença de Alzheimer. AD, Alzheimer's disease; APP/PS-1, amyloid protein precursor/presenilin-1; 3xTg-AD, triple transgenic AD.

Modelo animal	População	Fármaco	Dosagem	Duração do tratamento	Resultados	Bibliografia
3xTg-AD	30 murganhos (13machos; 17fêmeas)	Exenatido	21mcg/kg/dia via subcutânea	16 semanas	Neuroproteção; Diminuição da placa amiloide e da fosforilação da proteína tau.	7

AD induzida por STZ	40 murganinhos machos	Exenatido	6,4mcg/kg/dia Via intraperitoneal	4 semanas	Restauração da via da sinalização mediada pela insulina; Diminuição da hiperfosforilação da proteína tau.	54
AD induzida por STZ	30 murganinhos machos	Exenatido	20mcg/kg/dia Via subcutânea	2 semanas	Neuroproteção; Diminuição da hiperfosforilação da proteína tau.	55
AD induzida por STZ	21 murganinhos machos	Exenatido	20mcg/kg/dia Via intraperitoneal	2 semanas	Aumento da viabilidade neuronal hipocampo e da atividade colinérgica; Diminuição da resposta inflamatória.	56
AD induzida por STZ	24 murganinhos machos	Liraglutido	300mcg/kg/dia via subcutânea	6 semanas	Diminuição da hiperfosforilação da proteína tau; Redução da degeneração neuronal.	57
APP/PS-1	24 murganinhos machos	Liraglutido	25nmol/kg/dia Via intracerebral	8 semanas	Neuroproteção; Diminuição da placa amiloide e da inflamação.	58
APP/PS-1	24 murganinhos machos	Liraglutido	25nmol/kg/dia Via intraperitoneal	8 semanas	Neuroproteção; Neurogênese Diminuição da placa amiloide e da inflamação.	59
APP/PS-1	24 murganinhos machos	Liraglutido	25nmol/kg/dia Via intraperitoneal	8 semanas	Propriedades profiláticas; Diminuição da inflamação, da perda sináptica e da integridade das sinapses.	62
APP/PS-1	57 murganinhos machos	Lixisenatido	1 ou 10nmol/kg/dia Via intraperitoneal	8 semanas	Neuroproteção; Diminuição da placa amiloide e da inflamação; Aumento do número de sinapses e da sua integridade.	63
3xTg-AD	24 murganinhos fêmeas	Lixisenatido	10nmol/kg/dia Via intraperitoneal	9 semanas	Diminuição da placa amiloide, dos NFTs e da neuroinflamação.	3

CONCLUSÃO

A ausência de terapêuticas eficazes para o tratamento da AD tem desencadeado vários estudos científicos que visam elucidar a fisiopatologia da doença, ultrapassando o conceito inicial de que a perda neuronal e a atrofia cerebral se devem exclusivamente à presença de placas amiloides e de NFTs.

Cada vez mais evidências científicas têm demonstrado que a resistência à insulina e a disfunção da sinalização mediada pela insulina contribuem para o desenvolvimento e progressão da AD, sugerindo que a AD se encontra associada a alterações metabólicas.

Assim, estudos científicos recentes revelaram que a sinalização da insulina

no cérebro desempenha um papel importante nas funções neuronais através das suas capacidades neuromoduladoras, neuroprotetoras e neuroendócrinas, essenciais para a preservação das funções cognitivas. Esta compreensão permitiu identificar novas estratégias terapêuticas para o tratamento da AD recorrendo aos efeitos pleiotrópicos dos agonistas do GLP-1R que partilha vias de sinalização comuns às da insulina. Deste modo, ensaios pré-clínicos têm evidenciado o potencial terapêutico de fármacos incretinomiméticos, como o exenatido, liraglutido e o lixisenatido, no retardamento da progressão da AD, enaltecendo as suas propriedades neuroprotetoras e neuroproliferativas e as suas capacidades de interferir na formação da placa amiloide, nos NFTs e na resposta inflamatória. Contudo, ensaios clínicos realizados em humanos revelaram-se inconclusivos e, apesar dos avanços consideráveis, mais ensaios clínicos serão necessários para determinar o potencial terapêutico dos agonistas do GLP-1R na AD.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não possuir conflitos de interesse nem financiamentos do estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Han WN, Hölscher C, Yuan L, Yang W, Wang XH, Wu MN, et al. Liraglutide protects against amyloid- β protein-induced impairment of spatial learning and memory in rats. *Neurobiol Aging*. 2013;34(2):576-88.
2. Cai HY, Hölscher C, Yue XH, Zhang SX, Wang XH, Qiao F, et al. Lixisenatide rescues spatial memory and synaptic plasticity from amyloid- β protein-induced impairments in rats. *Neuroscience*. 2014;277:6-13.
3. Cai HY, Yang JT, Wang ZJ, Zhang J, Yang W, Wu MN, et al. Lixisenatide reduces amyloid plaques, neurofibrillary tangles and neuroinflammation in an APP/PS1/tau mouse model of Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;495(1):1034-40.
4. Alzheimer's Association. 2018 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement* 2018;14(3):367-429.
5. Li T, Jiao JJ, Hölscher C, Wu MN, Zhang J, Tong JQ, et al. A novel GLP-1/GIP/Gcg triagonist reduces cognitive deficits and pathology in the 3xTg mouse model of Alzheimer's disease. *Hippocampus*. 2018;28(5):358-72.
6. Hansen HH, Barkholt P, Fabricius K, Jelsing J, Terwel D, Pyke C, et al. The GLP-1 receptor agonist liraglutide reduces pathology-specific tauphosphorylation and improves motor function in a transgenic hTauP301L mouse model of tauopathy. *Brain Res*. 2016;1634:158-70.
7. Li Y, Duffy KB, Ottinger MA, Ray B, Bailey JA. GLP-1 receptor stimulation reduces amyloid- β peptide accumulation and cytotoxicity in cellular and animal models of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2010;19(4):1205-19.
8. Verdile G, Fuller SJ, Martins RN. The role of type 2 diabetes in neurodegeneration. *Neurobiol Dis*. 2015;84:22-38.
9. Hansen HH, Fabricius K, Barkholt P, Niehoff ML, Morley JE, Jelsing J, et al. The GLP-1 receptor agonist liraglutide improves memory function and increases hippocampal CA1 neuronal numbers in a senescence-accelerated mouse

model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2015;46(4):877-88.

10. Kandimalla R, Thirumala V, Reddy PH. Is Alzheimer's disease a type 3 diabetes? A critical appraisal. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2017;1863(5):1078-89.

11. Brunetti A, Chiefari E, Foti D. Recent advances in the molecular genetics of type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes.* 2014;5(2):128-40.

12. Rani V, Deshmukh R, Jaswal P, Kumar P, Bariwal J. Alzheimer's disease: is this a brain specific diabetic condition? *Physiology & Behavior.* 2016;164:259-67.

13. Ohara T, Doi Y, Ninomiya T, Hirakawa Y, Hata J, Iwaki T, et al. Glucose tolerances status and risk of dementia in the community: the Hisayama study. *Neurology.* 2011;77(12):1126-34.

14. Xu WL, von Strauss E, Qiu CX, Winblad B, Fratiglioni L. Uncontrolled diabetes increases the risk of Alzheimer's disease: a population-based cohort study. *Diabetologia.* 2009;52(6):1031-9.

15. Baker LD, Cross D, Minoshima S, Belongia D, Watson GS, Craft S. Insulin resistance is associated with Alzheimer-like reductions in regional cerebral glucose metabolism for cognitively normal adults with prediabetes or early type 2 diabetes. *Arch Neurol.* 2011;68(1):51-7.

16. McClean PL, Gault VA, Harriott P, Hölscher C. Glucagon-like peptide-1 analogues enhance synaptic plasticity in the brain: a link between diabetes and Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol.* 2010;630(1-3):158-62.

17. Hölscher C. Potential role of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in neuroprotection. *CNS Drugs.* 2012;26(10):871-82.

18. Duarte AI, Candeias E, Correia SC, Santos RX, Carvalho C, Cardoso S, et al. Crosstalk between diabetes and brain: glucagon-like peptide-1 mimetics as a promising therapy against neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1832(4):527-41.

19. Frozza RL, Lourenco MV, De Felice FG. Challenges for Alzheimer's disease therapy: insights from novel mechanisms beyond memory defects. *Front Neurosci.* 2018;12:37.

20. Van Cauwenberghe C, Van Broeckhoven C, Sleegers K. The genetic landscape of Alzheimer disease: clinical implications and perspectives. *Genet Med.* 2016;18(5):421-31.

21. Holtzman DM, Morris JC, Goate AM. Alzheimer's disease: the challenge of the second century. *Sci Transl Med.* 2011;3(77):77sr1.

22. LaFerla FM, Green KN. Animal models of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(11).

23. Li X, Song D, Leng SX. Link between type 2 diabetes and Alzheimer's disease: from epidemiology to mechanism and treatment. *Clin Interv Aging.* 2015;10:549-60.

24. De Felice FG, Ferreira ST. Inflammation, defective insulin signaling, and mitochondrial dysfunction as common molecular denominators connecting type 2 diabetes to Alzheimer disease. *Diabetes.* 2014;63(7):2262-72.

25. Bekris LM, Yu CE, Bird TD, Debby W, Tsuang DW. Genetics of Alzheimer disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol.*

2010;23(4):213-27.

26. Kumar A, Singh A, Ekavali. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacol Rep.* 2015;67(2):195-203.

27. Wen J, Fang F, Guo SH, Zhang Y, Peng XL, Sun WM, et al. Amyloid β -derived diffusible ligands (ADDLs) induce abnormal autophagy associated with A β aggregation degree. *J Mol Neurosci.* 2018;64(2):162-74.

28. Femminella GD, Bencivenga L, Petraglia L, Visaggi L, Gioia L, Grieco FV, et al. Antidiabetic drugs in Alzheimer's disease: mechanism of action and future perspectives. *J Diabetes Res.* 2017;2017:7420796.

29. Sims-Robinson C, Kim B, Rosko A, Feldman EL. How does diabetes accelerate Alzheimer disease pathology? *Nat Rev Neurol.* 2010;6(10):551-59.

30. Yu LY, Pei Y. Insulin neuroprotection and the mechanisms. *Chin Med J (Engl).* 2015;128(7):976-81.

31. Hölscher C, Li L. New roles for insulin-like hormones in neuronal signaling and protection: new hopes for novel treatments of Alzheimer's disease? *Neurobiol Aging.* 2010;31(9):1495-502.

32. Duarte AI, Moreira PI, Oliveira CR. Insulin in central nervous system: more than just a peripheral hormone. *J Aging Res.* 2012;2012:384017.

33. Calsoralo V, Edison P. Novel GLP-1 (glucagon-like peptide 1) analogues and insulin in the treatment for Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. *CNS Drugs.* 2015;29(12):1023-39.

34. Havrankova J, Schmechel D, Roth J, Brownstein M. Identification of insulin

in rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1978;75(11):5737-41.

35. Blázquez E, Velázquez E, Hurtado-Carneiro V, Ruiz-Albusac JM. Insulin in the brain: its pathophysiological implications for States related with central insulin resistance, type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2014;5:161.

36. Sepulveda FJ, Parodi J, Peoples RW, Opazo C, Aguayo LG. Synaptotoxicity of Alzheimer beta amyloid can be explained by its membrane perforating property. *PLoS One.* 2010;5(7):e11820.

37. Drab SR. Glucagon-like peptide-1 receptor agonists for type 2 diabetes: a clinical update of safety and efficacy. *Curr Diabetes Rev.* 2016;12(4):403-13.

38. Li L, Hölscher C. Common pathological processes in Alzheimer disease and type 2 diabetes: a review. *Brain Res Ver.* 2007;56(2):384-402.

39. De Felice FG, Lourenco MV, Ferreira ST. How does brain insulin resistance develop in Alzheimer's disease? *Alzheimers Dement.* 2014;10(Suppl):S26-S32.

40. Mittal K, Katare DP. Shared links between type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease: a review. *Diabetes Metab Syndr.* 2016;10(2 Suppl 1):S144-9.

41. Baglietto-Vargas D, Shi J, Yaeger DM, Ager R, LaFerla FM. Diabetes and Alzheimer's disease crosstalk. *Neurosci Biobehav Rev.* 2016;64:272-87.

42. Lourenco MV, Ferreira ST, De Felice FG. Neuronal stress signaling and eIF2 α phosphorylation as molecular links between Alzheimer's disease and diabetes. *Prog Neurobiol.* 2015;129:37-57.

43. Nilsson M, Gjedde A, Brock B, Gejl M, Rungby J. The effects of incretin hormones on cerebral glucose metabolism in health and disease. *Neuropharmacology*. 2018;136(Pt B):243-50.
44. Lee YS, Jun HS. Anti-diabetic actions of glucagon-like peptide-1 on pancreatic beta-cells. *Metabolism*. 2014;63(1):9-19.
45. Tasyurek HM, Altunbas HA, Balci MK, Sanlioglu S. Incretins: their physiology and application in the treatment of diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev*. 2014;30(5):354-71.
46. Simsir IY, Soyaltin UE, Cetinkalp S. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) likes Alzheimer's disease. *Diabetes Metab Syndr*. 2018;12(3):469-75.
47. Zhang D, Lv G. Therapeutic potential of spinal GLP-1 receptor signaling. *Peptides* 2018;101:89-94.
48. Pabreja K, Mohd MA, Koole C, Wootten D, Furness SG. Molecular mechanisms underlying physiological and receptor pleiotropic effects mediated by GLP-1R activation. *Br J Pharmacol*. 2014;171(5):1114-28.
49. Donnelly D. The structure and function of the glucagon-like peptide-1 receptor and its ligands. *Br J Pharmacol*. 2017;166(1):27-41.
50. Nadkarni P, Chepurny OG, Holz GG. Regulation of glucose homeostasis by GLP-1. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2014;121:23-65.
51. Hölscher C. Central effects of GLP-1: new opportunities for treatments of neurodegenerative diseases. *J Endocrinol*. 2014;221(1):T31-41.
52. Tran KL, Park YI, Pandya S, Muliylil NJ, Jensen BD, Huynh K, et al. Overview of glucagon-like peptide-1 receptor agonists for the treatment of patients with type 2 diabetes. *Am Health Drug Benefits*. 2017;10(4):178-88.
53. Hölscher C. Novel dual GLP-1/GIP receptor agonists show neuroprotective effects in Alzheimer's and Parkinson's disease models. *Neuropharmacology*. 2018;136(Pt B):251-59.
54. Xu W, Yang Y, Yuan G, Zhu W, Ma D, Hu S. Exendin-4, a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, reduces Alzheimer disease-associated tau hyperphosphorylation in the hippocampus of rats with type 2 diabetes. *J Investig Med*. 2015;63(2):267-72.
55. Chen S, Liu AR, An FM, Yao WB, Gao XD. Amelioration of neurodegenerative changes in cellular and rat models of diabetes-related Alzheimer's disease by exendin-4. *Age (Dordr)*. 2012;34(5):1211-24.
56. Solmaz V, Çınar BP, Yiğittürk G, Çavuşoğlu T, Taşkiran D, Erbaş O. Exenatide reduces TNF- α expression and improves hippocampal neuron numbers and memory in streptozotocin treated rats. *Eur J Pharmacol*. 2015;765:482-87.
57. Xiong H, Zheng C, Wang J, Song J, Zhao G, Shen H, et al. The neuroprotection of liraglutide on Alzheimer-like learning and memory impairment by modulating the hyperphosphorylation of tau and neurofilament proteins and insulin signaling pathways in mice. *J Alzheimers Dis*. 2013;37(3):623-35.
58. McClean PL, Parthasarathy V, Faivre E, Hölscher C. The diabetes drug liraglutide Prevents degenerative processes in a mouse model of Alzheimer's Disease. *J Neurosci*. 2011;31(17):6587-94.

59. McClean PL, Hölscher C. Liraglutide can reverse memory impairment, synaptic loss and reduce plaque load in aged APP/PS1 mice, a model of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*. 2014;76(Pt A):57-67.
60. Batista AF, Forny-Germano L, Clarke JR, Lyra E Silva NM, Brito-Moreira J, Boehnke SE, et al. The diabetes drug liraglutide reverses cognitive impairment in mice and attenuates insulin receptor and synaptic pathology in a non-human primate model of Alzheimer's disease. *J Pathol*. 2018;245(1):85-100.
61. Parthasarathy V, Hölscher C. Chronic treatment with the GLP1 analogue liraglutide increases cell proliferation and differentiation into neurons in an AD mouse model. *PLoS One*. 2013;8(3):e58784.
62. McClean PL, Jalewa J, Hölscher C. Prophylactic liraglutide treatment prevents amyloid plaque deposition, chronic inflammation and memory impairment in APP/PS1 mice. *Behav Brain Res*. 2015;293:96-106.
63. McClean PL, Hölscher C. Lixisenatide, a drug developed to treat type 2 diabetes, shows neuroprotective effects in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* 2014;86:241-58.
64. Gejl M, Gjedde A, Egefjord L, Møller A, Hansen SB. In Alzheimer's disease, 6-month treatment with GLP-1 analog prevents decline of brain glucose metabolism: randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *Front Aging Neurosci*. 2016;8:108.