



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

LEONARDO PIMENTEL DANTAS

**EFEITOS DO ÁCIDO α -LIPÓICO NAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E
NEUROQUÍMICAS INDUZIDAS PELA ADMINISTRAÇÃO DE SOLIFENACINA**

FORTALEZA

2023

LEONARDO PIMENTEL DANTAS

EFEITOS DO ÁCIDO α -LIPÓICO NAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E
NEUROQUÍMICAS INDUZIDAS PELA ADMINISTRAÇÃO DE SOLIFENACINA

Tese apresentada ao programa de Doutorado em Biotecnologia, Rede Nordeste de Biotecnologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Biotecnologia. Área de concentração: Biotecnologia em Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos

Coorientador: Prof. Dr. Manoel Cláudio Azevedo Patrocínio

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- D213e Dantas, Leonardo Pimentel.
Efeitos do ácido alfa-lipóico nas alterações comportamentais e neuroquímicas indevidas pela administração de solifenacina / Leonardo Pimentel Dantas. – 2023.
112 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, , Fortaleza, 2023.
Orientação: Prof. Dr. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos.
Coorientação: Prof. Dr. Manoel Cláudio Azevedo Patrocínio.
1. Succinato de solifenacina. 2. Demência. 3. Ácido lipoico. 4. Estresse oxidativo . 5. Déficit cognitivo
. I. Título.

CDD

LEONARDO PIMENTEL DANTAS

EFEITOS DO ÁCIDO α -LIPÓICO NAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E
NEUROQUÍMICAS INDUZIDAS PELA ADMINISTRAÇÃO DE SOLIFENACINA

Tese apresentada ao programa de Doutorado
em Biotecnologia, Rede Nordeste de
Biotecnologia, da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial à obtenção do
título de Doutor em Biotecnologia. Área de
concentração: Biotecnologia em Saúde.

Aprovada em: 14/06/2023

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Caren Nádia Soares de Sousa
Centro Universitário da Grande Fortaleza

Prof. Dr. Marcelo Borges Cavalcante
Universidade de Fortaleza (Unifor)

Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Iardja Stéfane Lopes Sales
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, Humberto e Arlete, a quem
devo tudo o que sou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pela vida e pela minha família. Agradeço a Ele pela determinação, paciência e resiliência, elementos fundamentais durante todo o processo de amadurecimento, planejamento e execução desta pesquisa.

Agradeço ao meu pai Humberto e minha mãe Arlete, que sempre foram exemplos de honestidade, determinação, humildade, dedicação para com os filhos e religiosidade. Agradeço por todo o apoio e cuidado que sempre deram em minha jornada, tornando mais leves os momentos mais tensos, confortando meu espírito sem abrir mão de mostrar a responsabilidade e a ética, que sempre nortearam a nossa família. Agradeço por cada ensinamento, pelo carinho e amor dedicado e por abdicarem inúmeras vezes de seu conforto e lazer para proporcionarem aos filhos o que de melhor estava ao seu alcance. Amo vocês.

Agradeço à minha esposa Jadna, pelo amor dedicado a mim e aos nossos filhos. Você é exemplo de determinação. Obrigado pela sua alegria e por ser sempre uma luz que me ajuda nos problemas mais complexos que surgem em nossas caminhadas. Agradeço também aos meus filhos, Analis e Rodrigo, pelos momentos de emoção e felicidade que só os filhos são capazes de proporcionar; obrigado por todo carinho que têm por mim.

Agradeço ao meu tio Sérgio, tão presente em minha vida; muito além do que se espera de qualquer tio, você foi muito mais. Agradeço por cada conselho dado durante a minha vida, participando de inúmeros momentos decisivos e transmitindo para mim e meus irmãos um pouco da sua experiência e inteligência, clareando nossa percepção. Com você tenho uma dívida impagável!

Agradeço à professora Sylvania Maria Mendes Vasconcelos, minha orientadora. Não há palavras que possam expressar minha gratidão por todo o suporte e orientação que recebi durante esses anos. Seu conhecimento, profissionalismo, experiência, disponibilidade e apoio foram inestimáveis para mim e fundamentais para que eu alcançasse mais este objetivo em minha vida acadêmica. Agradeço também ao meu amigo co-orientador e incentivador Dr. Manoel Claudio. Sem você não teria embarcado nesse desafio! Seu conhecimento e dedicação à medicina são inspiradores.

Agradeço a todos os profissionais, estudantes e neurocientistas do Laboratório de Neurofarmacologia pela colaboração e disponibilidade e aos professores da banca de qualificação e defesa pelas importantes contribuições.

À Instituição CAPES, pelo apoio financeiro para pesquisa. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001_

Enfim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão deste trabalho.

Aos meus pais, Humberto e Arlete, a quem devo tudo o que sou.

“Os que se encantam com a prática sem a ciência
são como os timoneiros que entram no navio sem
timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu
destino” (Leonardo da Vinci).

RESUMO

Estudos epidemiológicos recentes têm demonstrado efeitos adversos de antimuscarínicos usados no tratamento de disfunções miccionais, como a solifenacina (Sol), na função cognitiva e no risco de demência. A fisiopatologia observada nos quadros de demência, principalmente na doença de Alzheimer, pode estar relacionada à neuroinflamação e ao estresse oxidativo. Nesse contexto, o ácido α -lipóico (ALA), pelo seu potencial antioxidante, anti-inflamatório e neuroprotetor, foi utilizado nesta pesquisa com o objetivo de tentar diminuir os efeitos comportamentais e neuroquímicos induzidos pelo uso prolongado do antimuscarínico Sol. A apresentação desta tese foi dividida em 2 artigos científicos (2 capítulos), sendo o primeiro uma revisão científica demonstrando e discutindo os efeitos da Sol sobre a memória e o segundo, um estudo pré-clínico, onde foram avaliados os efeitos da Sol isoladamente ou associada ao ALA em testes comportamentais de memória e sua relação com o estresse nitro-oxidativo. Os camundongos do grupo controle receberam solução salina por 14 ou 28 dias. Os grupos tratados apenas com Sol, receberam doses diárias (1 ou 2 mg/kg, via oral) desse fármaco por 14 ou 28 dias. Os três grupos tratados com ALA (200mg/kg) receberam: a) solução salina por 14 dias + ALA do 15º ao 28º dia, b) Sol por 14 dias e Sol + ALA do 15º ao 28º dia ou c) Sol + ALA por 28 dia. Foram realizados testes comportamentais e determinadas as alterações nitro-oxidativas e a atividade de acetilcolinesterase no córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC) e corpo estriado (CE). Também foram determinados os níveis de IL-1 β e TNF- α no HC. Sol produziu alterações de memória nos camundongos, reduzindo o tempo de latência de descida no teste de esQUIVA passiva e o índice de reconhecimento no teste de reconhecimento de objetos. Sol também aumentou a peroxidação lipídica no CPF, HC e CE e os níveis de nitrito no HC. Por outro lado, o ALA associado à Sol foi capaz de reduzir os efeitos causados pela Sol isoladamente, tanto em relação aos parâmetros nitro-oxidativos quanto em relação aos testes comportamentais, também diminuindo a atividade da acetilcolinesterase no HC. Não houve alteração significativa nos níveis de IL-1 β e TNF- α no HC. Em conjunto, esses resultados sugerem que as alterações comportamentais induzidas pela Sol envolvem mecanismos nitro-oxidativos, abrindo perspectivas para utilização do ALA como droga adjuvante neuroprotetora em pacientes que necessitam de uso prolongado de Sol.

Palavras-chave: Succinato de solifenacina; demência; ÁCIDO lipoico; estresse oxidativo; déficit cognitivo.

ABSTRACT

Recent epidemiological studies have demonstrated adverse effects of bladder antimuscarinics such as solifenacin (Sol) on cognitive function and risk of dementia. The pathophysiology observed in cases of dementia, especially in Alzheimer's disease, may be related to neuroinflammation and oxidative stress. In this context, α -lipoic acid (ALA), due to its antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective potential, was used in this research with the objective of trying to reduce the behavioral and neurochemical effects induced by the cumulative use of the antimuscarinic Sol. The presentation of this thesis was divided into 2 scientific articles (2 chapters), the first being a scientific review demonstrating and discussing the effects of Sol on memory and the second, where the effects of Sol alone or associated with ALA on behavioral memory tests and their relationship with nitro-oxidative stress were studied. Mice in the control group received saline solution for 14 or 28 days. The groups treated only with Sol received daily doses (1 or 2 mg/kg, orally) of this drug for 14 or 28 days. The three groups treated with ALA (200mg/kg) received: a) saline solution for 14 days + ALA from the 15th to the 28th days, b) Sol for 14 days and Sol + ALA from the 15th to the 28th days or c) Sol + ALA for 28 days. Behavioral tests were performed and determined the nitro-oxidative changes and acetylcholinesterase activity in the prefrontal cortex (PFC), hippocampus (HC), and striatum (ST). IL-1 β and TNF- α levels in HC were also determined. Sol produced memory alterations in mice, reducing the descent latency time in the passive avoidance test and the recognition index in the novel object recognition test. Sol also increased lipid peroxidation in PFC, HC, and ST and nitrite levels in HC. On the other hand, ALA associated with Sol was able to reduce the effects caused by the Sol alone, both in relation to the nitro-oxidative parameters and in relation to the behavioral tests, also decreasing the acetylcholinesterase activity in the HC. There was no significant change in IL-1 β and TNF- α levels in HC. These results suggest that the behavioral changes induced by Sol involve nitro-oxidative mechanisms, opening perspectives for the use of ALA as a neuroprotective adjuvant drug in patients who need prolonged use of Sol.

Keywords: Solifenacin succinate; dementia; lipoic acid; oxidative stress; cognitive deficit.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fatores de risco associados à demência.....	16
Figura 2 -	Corpo estriado, córtex pré-frontal e hipocampo	18
Figura 3 -	Fisiologia da micção	23
Figura 4 -	Vias eferentes do trato urinário inferior	24
Figura 5 -	Representação tridimensional (A) e plana (B) do ALA e do ácido dihidrolipóico (C e D)	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Afinidade dos antimuscarínicos pelos subtipos de receptores muscarínicos humanos	27
---	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACB	<i>Anticholinergic Cognitive Burden</i>
Ach	Acetilcolina
AGS	<i>American Geriatrics Society</i>
aHR	Razão de risco ajustada
AINES	Anti-inflamatórios não-esteroidais
ALA	Ácido alfa-lipoico
aOR	Razão de chances ajustada
ATP	Adenosina trifosfato
AUC	Área sob a curva concentração plasmática-tempo 0-24h
AVC	Acidente vascular cerebral
BDNF	<i>Brain-derived neurotrophic factor</i>
BH	Bexiga hiperativa
BHE	Barreira hematoencefálica
C _{máx}	Concentração máxima
COX-1	Ciclooxigenase-1
COX-2	Ciclooxigenase-2
DA	Doença de Alzheimer
DHLA	Ácido dihidrolipóico
DNA	Ácido desoxirribonucléico
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GluR1	Subunidade 1 de receptor de glutamato
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HC	Hipocampo
HO [•]	Radical hidroxila
IC	Intervalo de confiança
ID50	Potência inibitória de aumentos na pressão intravesical
IL-1 β	Interleucina-1 β
IL-18	Interleucina-18
IL-6	Interleucina-6

iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
M1R	Receptor muscarínico tipo 1
M2	N-óxido de solifenacina
M2R	Receptor muscarínico tipo 2
M3	4R-hidroxisolifenacina
M3R	Receptor muscarínico tipo 3
M4	4R-hidroxi N-óxido de solifenacina
M4R	Receptor muscarínico tipo 4
M5	N-glucuronídeo de solifenacina
M5R	Receptor muscarínico tipo 5
MDA	Malondialdeído
MMSE	<i>Mini-Mental State Examination</i>
MRP	Proteína associada à multirresistência
NADPH	<i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NF-κB	<i>Nuclear factor kappa B</i>
NGF	<i>Nerve growth factor</i>
NMDA	N-metil-D-aspartato
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
O ₂ ⁻	Radical superóxido
ONOO ⁻	Peroxinitrito
CPF	Córtex pré-frontal
RO50	Dose intravenosa para 50% de ocupação do receptor muscarínico no cérebro
SNC	Sistema nervoso central
Sol	Solifenacina
ST	Corpo estriado
TNF-α	Fator de necrose tumoral-α
TSDDs	Total de doses diárias padronizadas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1	Demência.....	15
2.2	Cognição, memória e áreas cerebrais envolvidas.....	17
2.3	Modulação colinérgica e memória.....	20
2.4	Uso de antimuscarínicos na disfunção miccional.....	22
2.5	Fatores que influenciam a ação dos antimuscarínicos no SNC.....	25
2.6	Succinato de solifenacina	26
2.7	Neuroinflamação, estresse oxidativo e demência.....	28
2.8	Ácido α-lipoico (ALA).....	32
3	JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA.....	36
4	OBJETIVOS.....	38
4.1	Objetivo geral.....	38
4.2	Objetivos específicos.....	38
5	CAPÍTULOS.....	39
5.1	CAPÍTULO I - Tratando a disfunção vesical com solifenacina: existe risco de demência ou comprometimento cognitivo?.....	40
5.2	CAPÍTULO II - Efeitos protetores do ácido alfa-lipóico no déficit de memória induzido pelo tratamento prolongado com solifenacina em camundongos: o papel do estresse nitro-oxidativo.....	57
	REFERÊNCIAS.....	90

1 INTRODUÇÃO

O envelhecimento da população mundial vem ocorrendo progressivamente à medida que se desenvolvem tratamentos mais eficazes para doenças que causam morte precoce. O aumento do número de idosos traz como consequência o aumento da incidência de doenças comuns nas idades mais avançadas, como a demência. A incidência de demência atinge atualmente 50 milhões de pessoas no mundo, com perspectiva de triplicar até 2050 (LIVINGSTON et al., 2017). Segundo relatório das Nações Unidas a população mundial deve crescer em 2 bilhões de pessoas nos próximos 30 anos, passando dos atuais 7,7 bilhões de indivíduos para 9,7 bilhões em 2050, aumento estimado de 21%. Além do aumento populacional, haverá um aumento proporcional da população mais idosa. Até 2050, 1,1 bilhão de pessoas no mundo (11,3% da população) terá mais de 70 anos, mais que o dobro da população atualmente acima dos 70 anos que é aproximadamente 457 milhões (UNITED NATIONS, 2019). Dessa forma, o aumento da incidência de demência tem previsão de ocorrer até 2050 em ritmo mais acelerado que o envelhecimento e crescimento da população. No Brasil, informações sobre a incidência de demência são deficientes, entretanto, estima-se que essa incidência seja de 29 para 1000 pessoas-ano, em indivíduos acima de 60 anos de idade (CÉSAR-FREITAS et al., 2022).

Recentemente, alguns estudos populacionais foram publicados associando o uso de antimuscarínicos em idosos (incluindo antimuscarínicos para o tratamento da disfunção miccional) com o aumento da incidência de demência e também com aumento da mortalidade (COUPLAND et al., 2019; GRAY et al., 2015; GROSSI et al., 2019; KACHRU et al., 2020; WELK; MCARTHUR, 2020; YANG et al., 2017). Porém, a avaliação desses antimuscarínicos em relação aos seus efeitos no sistema nervoso central (SNC) deve levar em consideração cada fármaco individualmente, visto que possuem características farmacológicas específicas que podem interferir na concentração e na ação do fármaco no SNC (YAMADA et al., 2018).

A solifenacina (Sol), aprovada para uso clínico em 2005, é um dos antimuscarínicos mais utilizados para o tratamento de disfunções vesicais e tem sido associada à possibilidade de alterações na cognição (HARNOD et al., 2021; WELK; MCARTHUR, 2020; YANG et al., 2017). Portanto, não só a investigação dos efeitos cerebrais desta droga tem importância significativa, como também a investigação de medicamentos que possam ter efeitos preventivos e neuroprotetores em pacientes usuários crônicos de Sol, como é o caso do ácido lipoico, o qual foi utilizado nesta pesquisa.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Demência

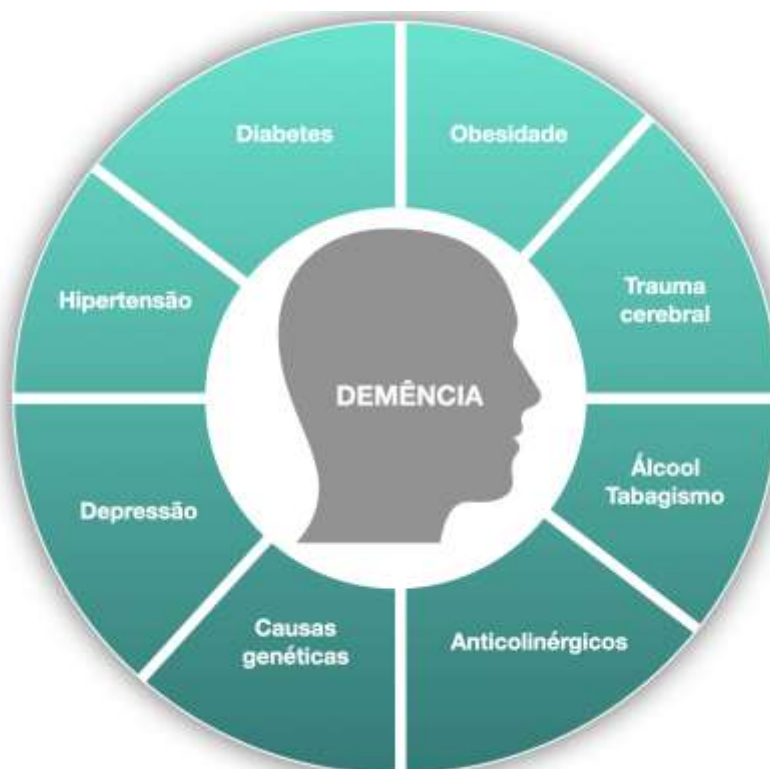
Demência é qualquer declínio na cognição que seja significativo o suficiente para interferir nas atividades independentes diárias (ocupacional, doméstica ou social), sendo melhor caracterizada como uma síndrome, com múltiplas possíveis causas (GALE; ACAR; DAFFNER, 2018). A demência foi definida, ao longo de décadas, como a perda crônica e adquirida de duas ou mais habilidades cognitivas, como memória, aprendizado, atenção, linguagem, entre outras (MCKHANN et al., 2011). Entretanto, a atualização de 2013 do Manual Estatístico dos Transtornos Mentais, ampliou a definição de demência, que poderia ser caracterizada, agora, pelo comprometimento de apenas uma das áreas funcionais cognitivas (APA, 2013). Dessa forma, trata-se de uma síndrome clínica heterogênea e que pode ser classificada em quatro subtipos principais: doença de Alzheimer (DA), demência vascular, demência fronto-temporal e demência por corpúsculos de Lewy, sendo a DA a mais comum (CHIU et al., 2006).

Do ponto de vista patológico, a demência mista é a mais prevalente, em que os pacientes apresentam doença neurodegenerativa associada à doença cerebrovascular (SCHNEIDER et al., 2009). Existem outras causas para déficit cognitivo leve (cognição prejudicada sem declínio da função diária) e demência que podem surgir no decorrer da vida como deficiência de vitaminas (tiamina, vitamina B12), hipotireoidismo, hidrocefalia com pressão normal, alcoolismo, infecções (HIV, por exemplo), massas intra-cranianas, lesão cerebral por trauma (GALE; ACAR; DAFFNER, 2018). Ressalta-se também a importância do uso de alguns medicamentos em idosos com potencial efeito deletério para o SNC, como os anticolinérgicos. O uso dessas medicações deve sempre que possível ser evitado nos pacientes com quadro de déficit cognitivo ou demência já que podem provocar ou piorar o déficit cognitivo (FICK et al., 2019).

Apesar de ser uma doença progressiva e não curável, existem fatores de risco modificáveis para demência, que são associados à 40% das demências no mundo. Exemplos desses fatores são hipertensão, diabetes, perda auditiva, consumo de álcool, tabagismo, obesidade, déficit educacional, sedentarismo, pouco contato social, consumo de álcool, depressão, poluição do ar e lesão cerebral traumática (LIVINGSTON et al., 2020). Além desses, existem os fatores de risco para demência não modificáveis como sexo feminino, etnias

hispânica e afrodescendente (ASSOCIATION, 2019) e presença do alelo $\epsilon 4$ (homozigotos principalmente) no gene da apolipoproteína E (SHI et al., 2017) (figura 1). No entanto, na DA apenas 1% dos casos podem ser associados a mutações genéticas do gene que codifica a proteína precursora de amiloide- β (A β PP) ou as proteínas presenilina 1 (PS1) e 2 (PS2) (TÖNNIES; TRUSHINA, 2017).

Figura 1 – Fatores de risco associados à demência



Fonte: elaborado pelo autor.

Além do déficit cognitivo, a incidência de bexiga hiperativa e incontinência urinária também aumenta com a idade, sendo comum observar-se a coexistência de disfunções miccionais e de demência nos pacientes idosos. A associação de incontinência urinária e demência também aumenta de acordo com a gravidade da demência piorando a qualidade de vida dos idosos (ORME et al., 2015).

O principal tratamento disponível para demência autorizado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) se baseia em fármacos da classe dos inibidores da acetilcolinesterase, como rivastigmina, donepezila e galantamina (HANSEN et al., 2008). O desenvolvimento desses fármacos se baseou na identificação de terminais de axônios pré-sinápticos alterados na DA. Essas alterações foram associadas ao acúmulo de proteínas anormais, como placas de

proteína amiloide- β e emaranhados neurofibrilares compostos de proteína tau hiperfosforilada, ocasionando perda massiva de sinapses, dendritos e neurônios (HAMPEL et al., 2018). Com a progressão da doença, toda essa perda neuronal gera comprometimento estrutural e funcional de diversos sistemas neuro-cerebrais, inclusive o colinérgico.

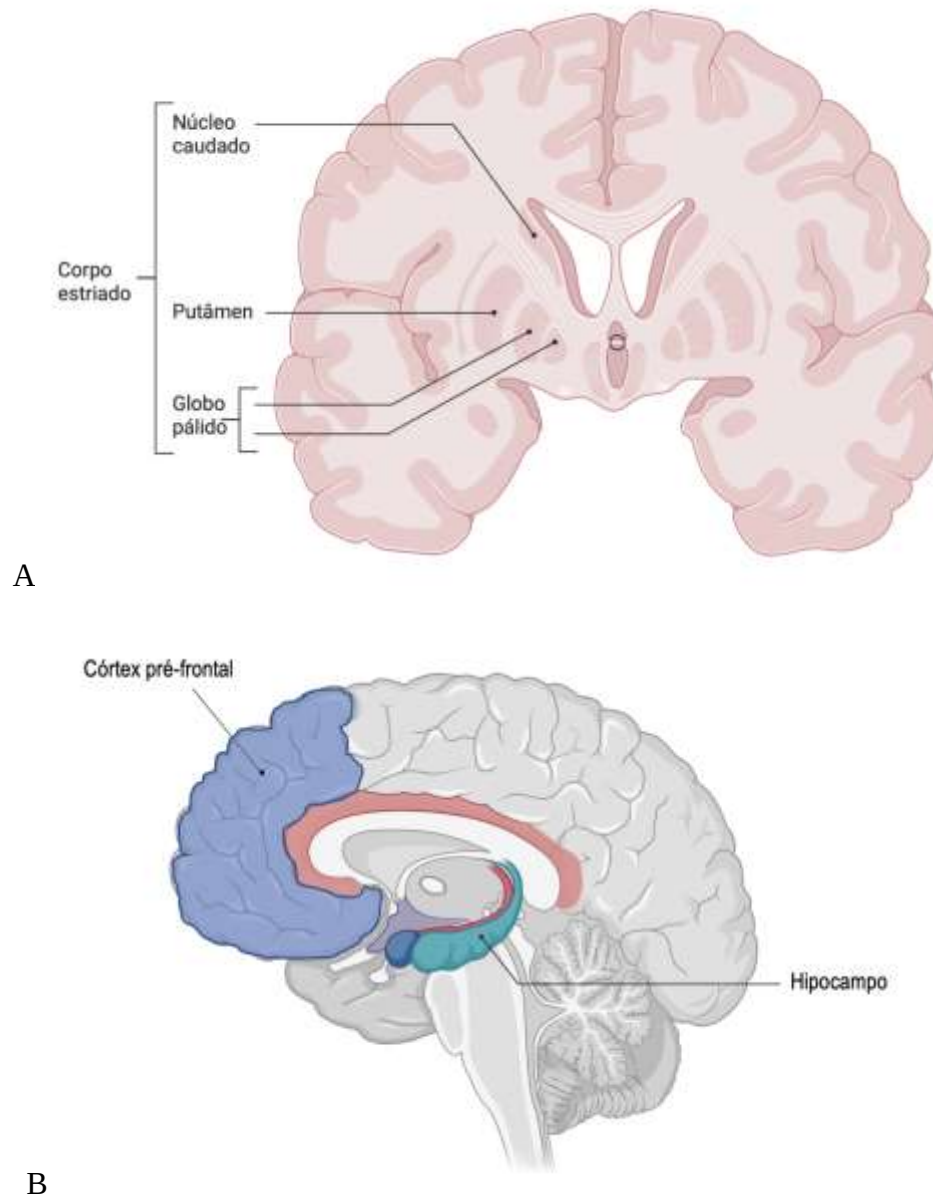
2.2 Cognição, memória e áreas cerebrais envolvidas

A percepção de que existem apenas dois tipos de memória, a de longo e a de curto prazo, deu lugar a uma classificação mais completa. Atualmente, existem quatro tipos de memória com significado clínico relevante: memória procedural (ou implícita), memória episódica, memória semântica e memória de trabalho. A memória pode ainda ser classificada como memória não-declarativa (ou implícita) cujo uso é inconsciente e memória declarativa (ou explícita) que é de uso consciente (KANDEL; DUDAI; MAYFORD, 2014; MATTHEWS, 2015). A memória explícita, diferentemente da memória implícita, pode ser verbalizada e geralmente envolve uma memória de mais curto prazo, porém, mais facilmente adquirida como ocorre na memorização de palavras ou de experiências pessoais vivenciadas. A memória explícita pode ser episódica ou semântica (BUDSON; PRICE, 2005).

A memória episódica envolve a lembrança de acontecimentos específicos e a memória semântica a lembrança de aspectos gerais como conceitos, palavras e seus significados, uso adequado de objetos e o nome destes. Por exemplo, a memória episódica é responsável pela lembrança por um paciente de sua hospitalização por pneumonia; já a memória semântica é responsável pela lembrança do nome de objetos previamente conhecidos pelo paciente como escova de dentes ou da utilidade deste objeto. A memória semântica envolve a região anterior e infero-lateral dos lobos temporais (BINDER; DESAI, 2011). As memórias episódicas são compostas pela codificação, consolidação e recuperação de determinadas lembranças, sendo estas armazenadas na região temporal medial do cérebro, principalmente no hipocampo, participando também deste processo outras regiões como circuito de Papez (fórnix, corpo mamilar e núcleo talâmico anterior) e córtex pré-frontal (PAPEZ, 1937; SPERLING et al., 2010; TUCKER, 2001) (figura 2).

A memória procedural inclui procedimentos motores que exigem habilidades e condicionamento como andar de bicicleta ou amarrar os cadarços do sapato, necessitando maior tempo para ser adquirida, sendo, entretanto, bastante duradoura. A memória procedural não envolve o córtex cerebral, mas sim os gânglios da base (incluindo corpo estriado), o cerebelo e a área motora suplementar do córtex, dessa forma sendo uma memória inconsciente e automática (ALBOUY et al., 2013; DUDAI; KARNI; BORN, 2015; MATTHEWS, 2015).

Figura 2 – Corpo estriado, córtex pré-frontal e hipocampo



Anatomia do cérebro humano evidenciando regiões importantes em diversos tipos de memória. A. O núcleo caudado, o putâmen e o globo pálido compõem o corpo estriado, região importante na memória procedural. B. Córtex pré-frontal e hipocampo: áreas relacionadas à memória episódica. Fonte: figura elaborada pelo autor em Biorender.com.

O córtex pré-frontal acumula informações sobre o contexto de memórias inter-relacionadas, sendo fundamental a interação entre hipocampo e córtex pré-frontal na contextualização das memórias consolidadas (PRESTON; EICHENBAUM, 2013). Estudos em roedores e com estimulação eletrofisiológica demonstram que o hipocampo é a região cerebral mais importante para o armazenamento e recuperação de memórias contextuais e episódicas (MORRIS et al., 1982; R.N.DEJ., 1951). Quando um episódio é codificado, componentes desta

lembrança são armazenados em locais diferentes do cérebro, sendo o hipocampo o responsável por ordenar e reorganizar essas informações em uma única memória episódica (NADEL; MOSCOVITCH, 1997). Já o córtex pré-frontal atua auxiliando o hipocampo na recuperação da memória correta para determinado contexto (PRESTON; EICHENBAUM, 2013). O hipocampo tem ainda importância central na memória espacial, sendo que esta está comprometida em pacientes idosos com diminuição do hipocampo, havendo correlação entre a preservação da memória espacial e da cognição (KONISHI et al., 2017).

Nas disfunções da memória episódica geralmente ocorre dificuldade em se aprender novas informações (amnésia anterógrada), podendo haver também amnésia retrógrada relacionada a eventos acontecidos pouco antes dessa disfunção, havendo, entretanto, preservação de memórias remotas (BUDSON, 2009; METCALFE; FISHER, 1986).

O lobo temporal medial esquerdo e o lobo frontal esquerdo são mais relacionados com o aprendizado de palavras; já o lobo temporal medial direito e o lobo frontal direito relacionam-se com o aprendizado visual. O lobo frontal está mais relacionado com a organização das informações relativas a experiências pessoais, as quais serão armazenadas em outras partes do cérebro. O lobo temporal é fundamental para o armazenamento da memória recente, sendo a memória de longo prazo armazenada em diversas outras áreas do córtex cerebral (BREWER et al., 1998).

A memória de trabalho necessita de atenção, concentração e memória de curto prazo funcionante; tem duração mais efêmera, geralmente de segundos a minutos. Essa memória é utilizada, por exemplo, para gravar números de telefone ou a localização na prateleira de um item no supermercado deixado para o final das compras. A memória de trabalho utiliza diversas áreas cerebrais como córtex pré-frontal, áreas de Broca e de Wernicke e áreas associadas à visão (BUDSON; PRICE, 2005).

A memória envolve o armazenamento de informações aprendidas e é crucial para a sobrevivência e adaptação dos animais. Para que haja um correto funcionamento da memória e se usufrua do aprendizado adquirido é necessário não somente o armazenamento adequado das novas informações, mas também a preservação da capacidade de se acessar e reconstruir esse conhecimento estocado em nosso cérebro (KANDEL; DUDAI; MAYFORD, 2014).

Alterações na memória podem ter início súbito ou insidioso e ter duração transitória ou crônica, podendo decorrer de diversos processos patológicos como doenças neurodegenerativas, acidente vascular cerebral (AVC), traumatismo cranioencefálico, tumor cerebral, hipóxia, desnutrição, déficit de atenção, doenças genéticas ou cromossômicas,

depressão, ansiedade, ação de medicamentos ou pelo próprio envelhecimento (TUCKER, 2001).

As disfunções crônicas da memória são mais sugestivas de doenças neurodegenerativas, como ocorre em diversos tipos de demência. Na DA, frequentemente a ressonância nuclear magnética evidencia atrofia significativa do lobo temporal medial e do hipocampo, podendo haver acometimento da memória semântica, episódica e de trabalho, geralmente não afetando a memória procedural, sendo esta doença a causa mais comum de disfunções da memória semântica (GREENE; HODGES, 1996; HEINDEL et al., 1989). A amnésia anterógrada é a alteração mais comum na DA (MCKHANN et al., 2011). As outras demências como demência por corpúsculos de Lewy, demência fronto-temporal e demência vascular, embora tenham uma incidência menor que a DA, também são causas possíveis de comprometimento da memória declarativa (MATTHEWS, 2015).

A consolidação de memórias de longo prazo no cérebro envolve mecanismos ainda não totalmente elucidados, mas que provavelmente consistem em mudanças estruturais nas junções sinápticas e nas células dos circuitos cerebrais, envolvendo principalmente o hipocampo e o neocórtex (VON BOHLEN UND HALBACH; VON BOHLEN UND HALBACH, 2018). A plasticidade neural, a modulação da expressão gênica e a síntese proteica são mecanismos propostos para explicar a transformação da memória recente em memória de longo prazo (DUDAI; KARNI; BORN, 2015; TONEGAWA et al., 2015). Alterações sinápticas induzidas por estímulos de longo prazo podem resultar em aumento das terminações sinápticas e crescimento dos dendritos. Essas modificações são responsáveis pela mudança da memória de curto prazo, para uma memória mais duradoura de longo prazo (BARTSCH et al., 1995).

2.3 Modulação colinérgica e memória

A acetilcolina (ACh) é um neurotransmissor que se liga a esses receptores e é essencial para função cognitiva, sendo abundante no hipocampo e com um papel mediador importante na formação da memória semântica e episódica, tendo sido associado às demências relacionadas à idade, como ocorre na DA, onde o sistema colinérgico se encontra bastante comprometido (HAAM; YAKEL, 2017). A disfunção colinérgica pode ser observada no proencéfalo basal de pacientes com DA inicial, havendo diminuição do número de neurônios colinérgicos e da transcrição da enzima colina-acetiltransferase, que é necessária para a síntese de ACh no cérebro (GROTHER; HEINSEN; TEIPEL, 2012; TEIPEL et al., 2014;

WHITEHOUSE et al., 1982). Também foi observado nos pacientes com DA diminuição do número de receptores colinérgicos e da ligação da Ach no hipocampo (PARENT et al., 2013).

O cérebro possui todos os cinco subtipos de receptores muscarínicos (M1, M2, M3, M4 e M5) sendo o receptor M1 o mais abundante no hipocampo e associado à regulação da excitabilidade dos neurônios dessa região (LEVEY, 1996; YI et al., 2014). O receptor M1 é abundante ainda no córtex cerebral. Os receptores M1 e M4 são encontrados no corpo estriado e o receptor M2 é predominante no tronco cerebral e cerebelo. O receptor M3 exibe menor densidade no cérebro que os receptores M1, M2 e M4 (YAMADA et al., 2018).

A degeneração no núcleo de Meynert localizado no proencéfalo basal está relacionada à deficiência colinérgica e também pode ser observada em pacientes com déficit cognitivo leve, o qual aumenta o risco para subsequente desenvolvimento de DA (JESSEN et al., 2010). A perda de neurônios colinérgicos no núcleo de Meynert de pacientes com DA é intensa, chegando a 100.000 neurônios nos pacientes com DA avançada em comparação com 500.000 neurônios colinérgicos de um indivíduo normal, havendo uma grande degeneração dessa região à medida que a DA progride (FERREIRA-VIEIRA et al., 2016).

Outro fator que corrobora para a importância da Ach na preservação da memória é o fato de que nos pacientes com DA costuma haver uma melhora da memória, mesmo que não duradoura, durante o início do tratamento com inibidores da acetil-colinesterase como donepezil, rivastigmina e galantamina (EHRET; CHAMBERLIN, 2015). Ainda, quando receptores muscarínicos são bloqueados com escopolamina, a codificação da memória fica prejudicada (NEWMAN; GOLD, 2016). A escopolamina diminui ainda a atividade da enzima colina-acetiltransferase, que é a enzima envolvida na biossíntese de Ach (CHOI et al., 2021).

O uso de anticolinérgicos em idosos e, principalmente, a associação de anticolinérgicos e seu efeito cumulativo aumentando a carga colinérgica total estão associados com impacto negativo sobre o cérebro e piora da cognição (SALAHUDEEN; DUFFULL; NISHTALA, 2015). Disfunções cognitivas induzidas por agentes antimuscarínicos são mediadas, principalmente, pelos receptores M1 e M2 no SNC (KAY et al., 2006). Dessa forma, a Ach desempenha papel fundamental na preservação da memória (HAAM; YAKEL, 2017). Além de causar déficit de memória, fármacos anticolinérgicos podem ainda causar outros efeitos adversos no SNC como agitação, confusão e delírios (RUDOLPH et al., 2008).

O uso de anticolinérgicos em pacientes idosos tem sido frequente, chegando a 33% na população idosa com demência (ROE; ANDERSON; SPIVACK, 2003). Em um estudo que avaliou 3,78 milhões de adultos idosos com mais de 65 anos de idade e demência, foi relatado

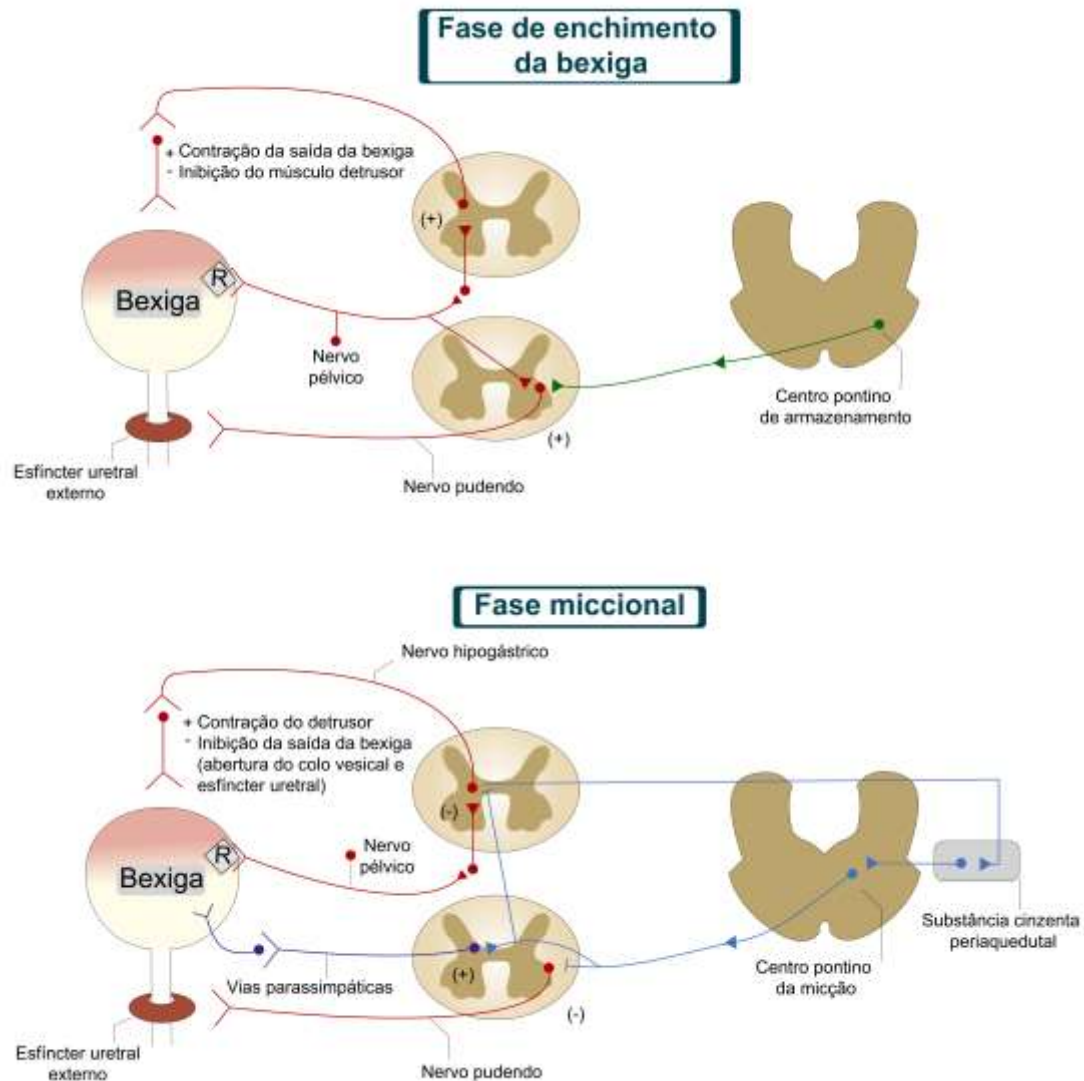
o uso de medicamentos anticolinérgicos potencialmente inadequados em 1,02 milhões (26,9%), sendo os mais frequentemente prescritos oxibutinina, Sol, paroxetina, tolterodina, prometazina e ciclobenzaprina (KACHRU et al., 2015). Em estudo retrospectivo entre 2008 e 2011 com novos usuários de antimuscarínicos, em que foram analisados 42.886 pacientes, percebeu-se que 33% deles recebeu oxibutinina como terapia inicial. Do total de pacientes do estudo, havia comprometimento cognitivo em 23,9% antes do início do uso de antimuscarínicos, índice que alcançou 41,1% ao final do estudo (VOURI et al., 2018). Em 2012, a *American Geriatrics Society* (AGS) incluiu no *Beers criteria* o uso de antimuscarínicos como fármacos que deveriam ser evitadas ou utilizadas com cautela na população idosa (FICK et al., 2019).

2.4 Uso de antimuscarínicos na disfunção miccional

A bexiga apresenta uma integração com o SNC e o centro pontino da micção através da medula espinhal. As vias eferentes parassimpáticas, que se originam na medula espinhal sacral, chegam através do nervo pélvico às células ganglionares do plexo pélvico e gânglios distais na bexiga, cujas terminações nervosas pós-gangliônicas liberam Ach. A bexiga humana possui todos os receptores muscarínicos, mas os receptores M2 e M3 são os mais predominantes, sendo o receptor M3 o principal envolvido na contração detrusora (ABRAMS et al., 2006). As moléculas de Ach interagem com os receptores muscarínicos presentes nas células musculares lisas do músculo detrusor da bexiga e provocam a contração e o esvaziamento da bexiga através principalmente da estimulação dos receptores M3 (FOWLER; GRIFFITHS; DE GROAT, 2008; MANSFIELD et al., 2005).

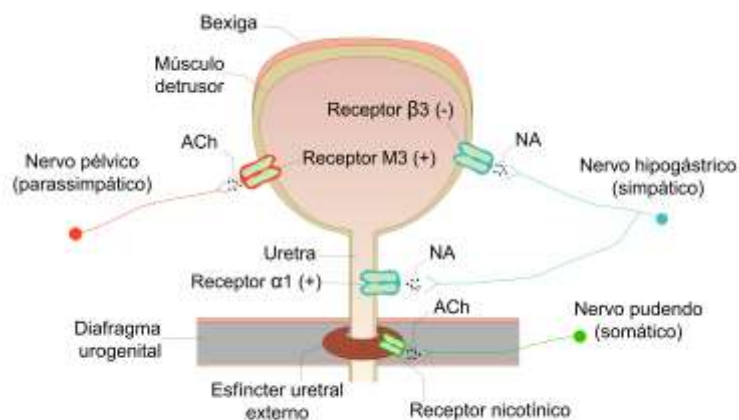
O urotélio da bexiga é tecido multifuncional que serve como barreira entre o conteúdo vesical e os tecidos subjacentes e como órgão sensorial, função mediada pela transdução de tensões físicas e químicas no sistema nervoso aferente e no músculo liso subjacente (YAMAGUCHI, 2013). Durante a fase de enchimento vesical (figura 3), estímulos aferentes provenientes da bexiga são inibidos, através de modulação do SNC, por reflexos espinhais que estimulam o sistema simpático (reflexo simpático da bexiga), o qual envia impulsos eferentes de volta para a bexiga inibindo o músculo detrusor e causando contração do colo vesical e esfíncter uretral interno via nervo hipogástrico, além de contração do esfíncter uretral externo (reflexo de guarda) via estímulo somático pelo nervo pudendo (figura 4).

Figura 3 – Fisiologia da micção



Durante a fase de enchimento vesical os estímulos aferentes provenientes da bexiga estimulam o sistema nervoso simpático que, por sua vez, inibe a contração do músculo detrusor da bexiga e promove contração do colo vesical e esfíncter uretral interno por ação do nervo hipogástrico e contração do esfíncter uretral externo via estímulo somático por ação do nervo pudendo. Na fase miccional o centro cerebral da micção inibe os estímulos simpáticos e pudendos para a bexiga e esfíncter uretral externo, havendo concomitantemente estímulo parassimpático pelo centro pontinho da micção com consequente contração do músculo detrusor da bexiga e relaxamento do colo vesical e dos esfíncteres uretrais interno e externo. A manutenção do reflexo miccional ocorre através dos impulsos aferentes da medula espinhal que passam através da substância cinzenta periaquedutal antes de alcançar o centro pontinho da micção (FOWLER; GRIFFITHS; DE GROAT, 2008). R, representa os receptores em terminais neurais aferentes na bexiga Fonte: figura elaborada por Sofia Amorim Martins (adaptada de Fowler et al, 2008).

Figura 4 - Vias eferentes do trato urinário inferior



As fibras parassimpáticas no nervo pélvico liberam ACh, que estimula principalmente os receptores M3 da bexiga, produzindo a contração do músculo detrusor durante a micção. Os neurônios simpáticos pós-ganglionares liberam noradrenalina, que estimula os receptores adrenérgicos β3, relaxando a musculatura lisa da bexiga e estimula os receptores adrenérgicos α1, contraindo o músculo liso do esfíncter uretral interno durante a fase de enchimento vesical, o que impede a perda de urina. As terminações nervosas somáticas do nervo pudendo liberam ACh que interage com os receptores colinérgicos nicotínicos do músculo estriado do esfíncter uretral externo produzindo sua contração (FOWLER; GRIFFITHS; DE GROAT, 2008). ACh: acetilcolina; NA: noradrenalina. Fonte: figura elaborada por Sofia Amorim Martins (adaptada de Fowler et al, 2008).

O urotélio também exerce função secretora com liberação de mediadores como adenosina trifosfato (ATP) e a própria ACh, que atuam aumentando o tônus vesical e inibindo o sistema simpático à medida que ocorre o enchimento da bexiga. Já na fase miccional, o centro pontino da micção, modulado por mecanismos cortical-diencefálicos que correm através da substância cinzenta periaquedutal, envia estímulos parassimpáticos para a bexiga e esfíncter uretral interno causando a contração do músculo detrusor e o relaxamento da musculatura lisa do esfíncter uretral interno (DE GROAT, 1997; DE GROAT; GRIFFITHS; YOSHIMURA, 2015; FOWLER; GRIFFITHS; DE GROAT, 2008). Caso haja um descontrole nesses reflexos miccionais por alterações no SNC, medula espinhal ou mesmo idiopáticas que resultem na não inibição de forma satisfatória desses estímulos aferentes provenientes da bexiga, podem ocorrer contrações vesicais involuntárias (hiperatividade detrusora), podendo produzir sintomas de urgência, urge-incontinência, frequência e nictúria (FOWLER; GRIFFITHS; DE GROAT, 2008).

A hiperatividade detrusora pode ser idiopática, quando não tem causa definida (desencadeando os sintomas de bexiga hiperativa) ou neurogênica, quando se origina de

patologia neurológica, como ocorre na doença de Parkinson, traumatismo raqui-medular, seqüela de AVC, esclerose múltipla e mielomeningocele, por exemplo. A bexiga hiperativa, definida pela *International Continence Society* como “urgência urinária, geralmente acompanhada de frequência e nictúria, com ou sem incontinência urinária de urgência, na ausência de infecção do trato urinário ou outras patologias óbvias” é uma síndrome clínica com alta prevalência, atingindo 7 a 27% dos homens e 9 a 43% das mulheres, cuja incidência tende a aumentar com o aumento da idade atingindo 25% dos adultos acima de 60 anos, sendo que a maioria dos pacientes tem esses sintomas por vários anos (ABRAMS et al., 2002; GORMLEY et al., 2012; HAYLEN et al., 2010; VOURI et al., 2018). A presença de incontinência urinária ocorre em 10,4% dos homens e 19,3% das mulheres com mais de 60 anos. A maioria das incontinências associadas à demência parece estar associada à hiperatividade do detrusor, resultando em incontinência de urgência (ORME et al., 2015).

Tendo em vista a ação da Ach na contração da bexiga, o tratamento farmacológico clássico para o controle dos sintomas da hiperatividade detrusora é o uso de antimuscarínicos (VOURI et al., 2018). Esses fármacos agem ainda na fase de armazenamento, diminuindo a urgência miccional e aumentando a capacidade vesical. Os antimuscarínicos como oxibutinina, Sol, tolterodina, darifenacina, fesoterodina e tróspio são amplamente utilizados nas disfunções miccionais (TANAKA; MASUMORI; TSUKAMOTO, 2010), promovendo melhorias na frequência urinária diurna, na nictúria, no número de episódios de incontinência e no escore de qualidade de vida (YAMADA et al., 2018).

2.5 Fatores que influenciam a ação dos antimuscarínicos no SNC

Apesar dos efeitos positivos sobre a bexiga, efeitos adversos da ação antimuscarínica no restante do corpo podem ocorrer, como boca seca, constipação, retenção urinária, olhos ressecados, visão turva, dispepsia e déficit cognitivo (HAYLEN et al., 2010; NATALIN; LORENZETTI; DAMBROS, 2013; SEKEROGLU et al., 2016). A terapia com esses medicamentos pode ainda comprometer a função cognitiva, a semântica, a linguagem e a função executiva dos pacientes. No entanto, os efeitos são heterogêneos entre os diferentes tipos de antimuscarínicos. Entre os principais pontos cognitivos que podem sofrer alteração estão: poder de atenção, continuidade da atenção, qualidade da memória de trabalho, qualidade da memória episódica e velocidade da memória (KOSILOV et al., 2018).

A escolha do anticolinérgico mais seguro para o SNC envolve as seguintes variáveis: menor capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), ser substrato

para a glicoproteína-P e ter menor afinidade pelos receptores muscarínicos M1 e M2, os quais são os mais relacionados com o comprometimento cognitivo (ARAKLITIS et al., 2017; VOURI et al., 2018). A BHE torna-se mais permissiva em condições como envelhecimento, AVC, diabetes, trauma, esclerose múltipla, DA e doença de Parkinson (KAY; EBINGER, 2008; VOURI et al., 2018; WAGG, 2011). A permeabilidade da BHE é diretamente proporcional à idade do paciente devido ao encolhimento das células epiteliais e à abertura de junções apertadas (ARAKLITIS et al., 2017). Substâncias hidrofóbicas, lipofílicas, com carga neutra e moléculas menores (<400 Da) são mais fáceis de penetrar no SNC (ABRAMS; ANDERSSON, 2007). O cérebro também possui elemento de proteção desempenhado por um transporte de efluxo através da glicoproteína-P, que bombeia moléculas para fora do SNC (ARAKLITIS et al., 2017).

Antimuscarínicos mais antigos como oxibutinina têm demonstrado efeitos cognitivos adversos principalmente em pacientes idosos (PAGORIA; O'CONNOR; GURALNICK, 2011; VOURI et al., 2018). O uso de outros antimuscarínicos em idosos (incluindo antimuscarínicos para tratamento de disfunções miccionais como a Sol) também está associado ao aumento do risco para demência e aumento da mortalidade (COUPLAND et al., 2019; GRAY et al., 2015; KACHRU et al., 2020; RICHARDSON et al., 2018; WELK; MCARTHUR, 2020; YANG et al., 2017). A associação com diabetes melitus, que também é um fator de risco para demência, parece aumentar esse risco dos antimuscarínicos (YANG et al., 2017). Entretanto, a avaliação de cada um desses fármacos em relação aos seus efeitos no SNC deve levar em consideração cada droga individualmente, tendo em vista que os diversos antimuscarínicos possuem características farmacológicas específicas que podem interferir na concentração e ação da droga no SNC.

2.6 Succinato de solifenacina

O succinato de solifenacina é um sal ácido butanedioico com peso molecular de 480.5 Da, levemente básico (pKa 8.5), altamente lipofílico com uma distribuição octanol:água de 50:1 no pH7.0, sendo 93% positivamente carregado em um pH7.4 (KRAUWINKEL et al., 2005). A Sol, como a darifenacina, é uma amina terciária maior do que outros agentes antimuscarínicos como a oxibutinina, apresentando penetração menos significativa através da BHE (KOSILOV et al., 2018). No entanto, a Sol não possui mecanismo de efluxo como a darifenacina, transportada pela glicoproteína-P, e o cloreto de tróspio, transportado por uma

proteína associada à multirresistência (MRP), o que favorece seu acúmulo no SNC (KAY; EBINGER, 2008).

Além disso, em pacientes idosos alguns fatores podem sofrer modificações como alterações na farmacocinética ou farmacodinâmica comuns nessa faixa etária, combinação de múltiplos medicamentos, aumento da permeabilidade da BHE e menor quantidade de receptores muscarínicos no SNC, o que poderia aumentar os efeitos cerebrais da Sol (WAGG et al., 2013). Um estudo com dose múltipla de Sol (5 ou 10mg) em voluntários idosos (65 a 80 anos), por exemplo, mostrou que os valores da $C_{máx}$ (concentração máxima) e AUC (área sob a curva concentração plasmática-tempo 0-24h) foram 16% e 20%, respectivamente, maiores quando comparados com voluntários mais jovens (18 a 55 anos); o $t_{1/2}$ na dose de 5mg subiu de 59h nos homens mais jovens para 75h em homens idosos e de 53h para 68h em mulheres (KRAUWINKEL et al., 2005).

A Sol tem predileção pelos receptores M3 (tabela 1), os quais têm menor associação com memória e cognição (JAKOBSEN; KERSTEN; MOLDEN, 2011; PAGORIA; O'CONNOR; GURALNICK, 2011), porém, este fármaco também age de forma mais branda nos receptores M1, o que poderia gerar algum prejuízo cognitivo a longo prazo (PAGORIA; O'CONNOR; GURALNICK, 2011).

Tabela 1 – Afinidade dos antimuscarínicos pelos subtipos de receptores muscarínicos humanos

Molécula	M1	M2	M3	M4	M5
Oxibutinina	1	6,7	0,67	2	11
Tolterodina	3	3,8	3,4	5	3,4
Darifenacina	7,3	46	0,79	46	9,6
Solifenacina	25	125	10	NR	NR
Tróspio	0,75	0,65	0,5	1	2,3

Os valores representam a afinidade de ligação por receptores muscarínicos recombinantes humanos através da constante de ionização (K_i), que expressa a dissociação entre o ligante e o receptor (valores em nM). NR: não relatado. Fonte: Hegde S, 2006.

O metabolismo e eliminação da Sol ocorre principalmente através de mecanismos não renais, sendo metabolizada primariamente no fígado, com produção de 4 metabólitos: N-óxido de solifenacina, 4R-hidroxisolifenacina, N-glucuronídeo de solifenacina e 4R-hidroxi N-óxido de solifenacina, sendo apenas este último farmacologicamente ativo (DOROSHYENKO; FUHR, 2009). Entretanto, como a concentração plasmática de 4R-hidroxi N-óxido de

solifenacina é muito baixa e esse metabólito tem baixa potência, seu efeito clínico é insignificante (ABRAMS; ANDERSSON, 2007; DOROSHYENKO; FUHR, 2009; KRAUWINKEL et al., 2005).

2.7 Neuroinflamação, estresse oxidativo e demência

A patogênese da DA não é totalmente compreendida, mas há indícios de que a neuroinflamação e o estresse oxidativo participam da cascata patogênica desta doença (AKIYAMA et al., 2000; BUTTERFIELD; BOYD-KIMBALL, 2018; BERR, 2000; WANG et al., 2013). Células da micróglia ativadas são fortemente associadas com placas senis e emaranhados neurofibrilares, os quais são os marcadores patológicos característicos da DA e são cercados de intensa inflamação. Essas placas senis são constituídas por aglomeração de proteínas amiloide- β extracelular; já os emaranhados neurofibrilares compreendem agregados principalmente intracelulares de proteína tau hiperfosforilada (MCGEER; MCGEER, 2007).

As células da micróglia se localizam por todo o cérebro e são a primeira defesa imunológica presente no SNC, sendo ativadas na presença de moléculas associadas a patógenos ou danos endógenos, situação em que há liberação de diversos fatores pró-inflamatórios, como espécies reativas de oxigênio (EROs), IL-6, IL-1 β , óxido nítrico e outras citocinas inflamatórias (JO et al., 2021).

As células da micróglia são capazes de se ligar à proteína amiloide- β via receptores celulares de superfície, provocando ativação da micróglia e consequente produção de citocinas pró-inflamatórias (HENEKA et al., 2015). Algumas citocinas como TNF- α (fator de necrose tumoral – α) e Interleucina IL-1 β , podem atravessar a BHE, tendo sido demonstrado que os níveis cerebrais dessas citocinas estão elevados na DA (GRAMMAS; OVASE, 2001; GRIFFIN et al., 1989; SWARDFAGER et al., 2010). Além das citocinas pró-inflamatórias, há aumento dos níveis de complemento e de quimiocinas e há aumento da expressão das moléculas do complexo de histocompatibilidade maior na superfície das células da micróglia (HANSEN; HANSON; SHENG, 2018). O aumento dos níveis cerebrais destas citocinas pode levar à carga elevada de amiloide- β , aumento da fosforilação de tau e plasticidade sináptica prejudicada (FERREIRA et al., 2014).

Essas alterações inflamatórias podem justificar o resultado de alguns estudos que indicaram que o uso preventivo de anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES) está associado com um menor risco de desenvolver DA (ETMINAN et al., 2003; SZEKELY et al., 2004). Pacientes com artrite reumatoide, por exemplo, os quais são usuários crônicos de AINES

apresentam um risco seis vezes menor de desenvolver DA (MCGEER; MCGEER, 2007). Em um estudo em cérebros de cadáveres foi evidenciado que havia bem menos ativação da micróglia em usuários de AINES em comparação com não usuários (MACKENZIE, 2000). Esse efeito protetor dos AINES pode ser decorrente do bloqueio da COX-1 e 2 no cérebro, através do efeito direto dos AINES reduzindo a produção de amiloide- β ou diminuindo a transcrição de genes pró-inflamatórios como IL-6, TNF- α , COX-2, NOS e citocinas (WANG et al., 2015). Estudos com modelos de camundongos transgênicos de DA mostram que o uso de AINES está associado à redução da carga amiloide e redução da neuroinflamação (MCGEER; MCGEER, 2007).

As citocinas têm um papel importante na patogênese da DA. Essa ação é potencializada ainda pelo efeito desses mediadores estimulando a óxido nítrico sintase induzível (iNOS) na micróglia e astróglia, com aumento da produção de óxido nítrico, que é um radical livre que pode ser tóxico para os neurônios, estando a regulação de iNOS aumentada na DA (HENEKA et al., 2015). O dano causado pelo estresse oxidativo está aumentado com a idade e no cérebro de pacientes com DA (GALASKO et al., 2012).

Desde 1954, com a publicação de Gershman e colaboradores sobre radicais livres e toxicidade do oxigênio, o interesse com o estresse oxidativo e suas repercussões fisiológicas vem ganhando importância em várias áreas da medicina (GERSCHMAN et al., 1954). Radicais livres podem ser definidos como moléculas ou fragmentos de molécula contendo um ou mais elétrons não pareados, o que torna essas moléculas mais reativas, podendo produzir efeitos lesivos sobre os componentes celulares (lipídios, proteínas e DNA) (MILLER; BUETTNER; AUST, 1990). A ação das EROs no DNA pode dar origem à mutagênese ou carcinogênese, podendo estar envolvida também no processo de envelhecimento. Os telômeros, por exemplo, são bastante sensíveis à erosão causada pela ação de radicais livres, podendo justificar a associação entre o estresse oxidativo e o processo de senescência celular e apoptose (KIRKLAND; TCHKONIA, 2017).

Os fosfolipídios presentes nas células, inclusive nos neurônios, também são muito sensíveis à ação das EROs, principalmente os radicais peroxila, os quais interagem com as endoperoxidases, tendo como resultado da peroxidação lipídica a formação de malondialdeído (MDA) e lesão neuronal, podendo levar à neurodegeneração (MARNETT, 1999; ZHANG et al., 2020). Os produtos da peroxidação lipídica podem interferir na expressão gênica, na sinalização e na ativação de receptores (UMENO; BIJU; YOSHIDA, 2017).

Apesar dos efeitos indesejados causados pelos produtos do estresse oxidativo e nitrosativo (EROs e ERNs), esses radicais livres podem ter efeitos desejados para manutenção

da fisiologia normal como nas defesas contra agentes infecciosos, onde há fabricação exacerbada de radicais livres por neutrófilos e macrófagos ativados (via NADPH oxidase), na produção do óxido nítrico, que tem efeitos imprescindíveis sobre o tônus vascular ou participando de sistemas de sinalização celular envolvidos nos processos de proliferação celular ou apoptose (UMENO; BIJU; YOSHIDA, 2017; VALKO et al., 2007).

Enzimas com propriedades antioxidantes como xantina-oxidoreductase, superóxido-dismutase, catalase e glutathione-peroxidase e antioxidantes não enzimáticos como vitaminas C e E, glutathione, carotenoides, flavonoides e ácido α -lipóico, têm importante papel no equilíbrio das forças antioxidantes e oxidantes e manutenção da homeostase (LI et al., 2011; VALKO et al., 2007). A glutathione, o antioxidante mais abundante nas células, está presente no citosol, núcleo celular e nas mitocôndrias, tendo capacidade para neutralizar radicais hidroxila e oxigênio singlete, reduzindo o peróxido de hidrogênio e peróxidos lipídicos, podendo ainda, através da forma reduzida da glutathione, regenerar outros antioxidantes como vitaminas C e E (SHEN et al., 2005). A proporção aumentada de glutathione reduzida em relação à glutathione oxidada é mantida principalmente pela ação da enzima glutathione reductase (THANNICKAL; FANBURG, 2000).

O estresse oxidativo e nitrosativo é causado pelo desequilíbrio entre os mecanismos pró e anti-oxidantes com consequente excesso de EROs e de ERNs como radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila ($HO^\cdot$), óxido nítrico (NO) e peroxinitrito ($ONOO^\cdot$), sendo as mitocôndrias as principais contribuintes para a geração desses radicais, os quais são neutralizados pela ação de enzimas como superóxido dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, tioredoxinas e catalase.

Há indícios de que a disfunção mitocondrial pode levar a um aumento da produção de EROs e contribuir para os estágios iniciais da DA (TÖNNIES; TRUSHINA, 2017). Essa disfunção mitocondrial pode ser decorrente de alterações na atividade da enzima citocromo c oxidase que levam a uma produção diminuída de ATP, aumento da acidose láctica e de EROs (SRINIVASAN; AVADHANI, 2012), sendo observada diminuição da atividade dessa enzima e comprometimento mitocondrial no neocórtex e hipocampo, em modelo experimental de DA (AVETISYAN et al., 2016; SULLIVAN; READNOWER; SAUERBECK, 2011).

A DA está associada ainda com perda da homeostase de íons metálicos como ferro, cobre e zinco, o que piora ainda mais o estresse oxidativo, podendo haver comprometimento das sinapses nervosas, que é um mecanismo que precede a perda neuronal (SIMUNKOVA et al., 2019). O cérebro na DA apresenta vários indícios de aumento do estresse oxidativo como maiores níveis de ferro, cobre, alumínio; há ainda diminuição da citocromo c-oxidase, aumento

de MDA, superóxido dismutase-1 e peroxinitrito nos emaranhados neurofibrilares e aumento da peroxidação lipídica com diminuição do conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados no líquor (BUTTERFIELD et al., 2002).

Há indícios de que o uso de anticolinérgicos pode atuar de forma deletéria no SNC através da promoção do estresse oxidativo e da neuroinflamação (BUDZYNSKA et al., 2015; ISHOLA et al., 2013; JAWAID et al., 2014; MUHAMMAD et al., 2019; VENKATESAN et al., 2016; XIAN et al., 2015). O uso do anticolinérgico escopolamina, um antagonista não seletivo de receptor muscarínico, tem sido bastante utilizado como modelo experimental de indução de demência, causando aumento do estresse oxidativo cerebral e neuroinflamação (AKBARIAN et al., 2022; BEHESHTI et al., 2021; CHEON et al., 2021; JO et al., 2021; MUHAMMAD et al., 2019).

No hipocampo, o uso de escopolamina provoca aumento de MDA e redução dos níveis de glutathione peroxidase e superóxido-dismutase (LIU et al., 2020). A escopolamina induz lesão cerebral diminuindo os níveis cerebrais de glutathione, glutathione-S-transferase e catalase, aumentando a peroxidação lipídica e aumentando a expressão de mediadores inflamatórios como ciclooxigenase 2, NF- κ B, TNF- α e IL-1 β (IQBAL et al., 2020; LIU et al., 2020; MUHAMMAD et al., 2019). No hipocampo e córtex pré-frontal, a escopolamina produz neuroinflamação aumentando os níveis de TNF- α , IL-1 β , IL-18 e caspase-1 (CHEON et al., 2021).

Os níveis séricos de IL-1 β , IL-6 e interferon- γ também se encontram elevados com uso de escopolamina (CHOI et al., 2021). A administração de escopolamina aumenta os níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias possivelmente através de um mecanismo de inibição de vias anti-inflamatórias colinérgicas do sistema parassimpático (nervo vago) (MAURER; WILLIAMS, 2017). A Ach exerce um efeito anti-inflamatório através da supressão da liberação de citocinas pelos macrófagos presentes no fígado e baço. Dessa forma, o uso de anticolinérgicos produziria uma inibição da liberação de Ach nas vias vago-esplênicas, o que estimularia a produção de citocinas pró-inflamatórias no fígado e baço (TRACEY, 2007). Há indícios também de que um mecanismo muscarínico anti-inflamatório central pode ter um papel na modulação da resposta inflamatória cerebral (YOSHIYAMA et al., 2015).

O tratamento com escopolamina também reduz os níveis de *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), aumenta a apoptose neuronal no hipocampo e córtex cerebral e compromete a memória espacial, a cognição, o aprendizado e a consolidação da memória (CHEON et al., 2021; MUHAMMAD et al., 2019; RAHIMZADEGAN; SOODI, 2018). Esse

efeito da escopolamina sobre a capacidade de aprendizado e memória é comprovado experimentalmente através das alterações nos testes de labirinto em Y e esQUIVA inibitória de camundongos tratados com essa droga (CHOI et al., 2021).

Como já mencionado, a DA está associada com o acúmulo de amiloide- β no cérebro, o que aumenta a produção de citocinas pró-inflamatórias e a perda de neurônios (HENEKA et al., 2015). Há indícios de que o acúmulo de amiloide- β no tecido cerebral e o aumento da concentração cerebral de caspase-3, que é uma enzima envolvida na apoptose e disfunção neurológica, também podem aumentar com o uso de escopolamina (CHOI et al., 2021). Modelos experimentais sugerem ainda que o uso de anticolinérgicos pode aumentar a neurodegeneração e neuroinflamação, incluindo ativação da micróglia. O uso do antimuscarínico para bexiga propiverina, por exemplo, produziu grave perda neuronal e atrofia no hipocampo em modelo experimental com camundongos (YOSHIYAMA et al., 2015). Esse efeito de neurodegeneração cerebral com uso de anticolinérgicos também pode ser visto em humanos através de exames de imagem como ressonância nuclear magnética do cérebro. Em estudo com 402 idosos, observou-se, através da ressonância nuclear magnética, que os pacientes usuários de anticolinérgicos apresentavam diminuição do volume do córtex cerebral e aumento do ventrículo lateral, havendo também piora da cognição em comparação com os pacientes que não utilizavam essas medicações (RISACHER et al., 2016).

2.8 Ácido α -lipoico (ALA)

O ácido 1,2-ditiolano-3-pentanoico ou ácido tióctico ou ácido lipoico é uma coenzima das enzimas mitocondriais piruvato desidrogenase e α -cetoglutarato desidrogenase, com efeito antioxidante, isolada pela primeira vez em 1951 (MACZUREK et al., 2008; PACKER; WITT; TRITSCHLER, 1995). Esse composto ditiol é um antioxidante natural sintetizado por plantas e animais, incluindo o ser humano, onde é sintetizado nas mitocôndrias, participando no ciclo de Krebs em várias reações químicas. O ALA também é encontrado em alimentos como carne, coração, fígado, rim, brócolis, cenoura, batata, beterraba, farelo de arroz, tomate e espinafre, o que complementa a produção endógena que, por ser sintetizada em quantidades muito baixas a partir de cisteína e ácidos graxos, é insuficiente para a demanda metabólica do corpo (CARREAU, 1979; ISLAM, 1970; SALEHI et al., 2019; SHINTO et al., 2014).

O ALA é reduzido em vários tecidos para a forma ácido dihidrolipóico (DHLLA) e age como coenzima em diversas reações de redução em praticamente todos os tecidos do corpo,

dentro e fora das células, diminuindo o estresse oxidativo e agindo como uma coenzima para diversas enzimas (ISLAM, 1970; SCOTT et al., 1994). O ALA e sua forma reduzida DHLA (figura 5) exercem sua ação antioxidante de várias formas: aumentando os níveis de glutathione intracelular (os quais declinam com a idade) e de vitamina C e E através da regeneração desses antioxidantes; como quelante ou ligante de íons metálicos como ferro e cobre, evitando que esses íons gerem radicais livres; neutralizando radicais livres como EROs e ERNs (BIEWENGA; HAENEN; BAST, 1997).

O DHLA, que é um dos antioxidantes naturais do corpo humano mais potentes, atua sobre diversas EROs e ERNs como peroxinitrito, óxido nítrico, radicais hidroxila e peroxila, superóxido e ácido hipocloroso, não tendo ação, entretanto, sobre o peróxido de hidrogênio (SHAY et al., 2009). Uma das vantagens do ALA sobre outros antioxidantes é o fato dele agir tanto em compostos hidro como lipossolúveis (SINGH; JIALAL, 2008). O ALA também possui um efeito analgésico através do bloqueio dos canais de cálcio tipo T nos neurônios nociceptores (NGUYEN; TAKEMOTO, 2018).

O ALA administrado via oral é rapidamente absorvido pelo intestino delgado e distribuído para o fígado pela circulação porta e para vários tecidos via circulação sistêmica, sendo que o ácido lipoico livre atravessa rapidamente a BHE, tendo meia-vida plasmática de cerca de 30 minutos, com tempo para atingir a concentração plasmática máxima entre 30 a 60 minutos (BREITHAUPT-GRÖGLER et al., 1999). O ALA apresenta biodisponibilidade de apenas 30%, desencadeada por sua degradação hepática, solubilidade reduzida e instabilidade no estômago. No entanto, o uso de várias formulações inovadoras melhorou muito a biodisponibilidade do ALA, tendo a sua forma racêmica melhores parâmetros farmacocinéticos, incluindo maior biodisponibilidade em relação ao seu enantiômero S (SALEHI et al., 2019).

A biodisponibilidade e pico de concentração plasmática do ALA não apresentam diferenças em relação ao sexo, entretanto, são maiores em indivíduos acima de 75 anos em comparação com indivíduos mais jovens (entre 18 e 45 anos de idade), sendo este dado relevante ao considerarmos a população mais idosa como de maior risco para demência (KEITH et al., 2012). Tanto o ALA como sua forma reduzida (DHLA) podem ser encontrados no interior das mitocôndrias e nos meios intra e extracelulares (ISLAM, 1970).

Os efeitos antioxidantes e neuroprotetores do ALA também são observados em estudos *in vivo*, tanto em animais, como em humanos. Em um modelo de demência vascular em ratos *Wistar*, o uso de ALA por 28 dias mostrou redução significativa do déficit cognitivo induzido pela oclusão bilateral da artéria carótida comum, havendo aumento da glutathione

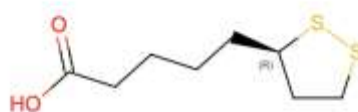
redutase no hipocampo, diminuição da produção de MDA e da geração de EROs (ZHAO et al., 2015). Em um estudo clínico observacional com pacientes com DA e demências relacionadas acompanhados por um período de 337 +/- 80 dias, foi observado que o uso de ALA 600mg/dia resultou em estabilização da função cognitiva (HAGER et al., 2001). Em outro estudo randomizado com 39 pacientes com DA, foi observado um menor declínio no *Mini-Mental State Examination* (MMSE) no grupo em que se associou ALA com ômega-3, após 12 meses, quando comparado com placebo (SHINTO et al., 2014). Estudos *in vitro* demonstraram efeitos neuroprotetores do ALA, diminuindo a citotoxicidade nos neurônios corticais mediada pela proteína amiloide- β e pelo H_2O_2 (LOVELL et al., 2003).

Figura 5 – Representação tridimensional (A) e plana (B) do ALA e do ácido dihidrolipóico (C e D)

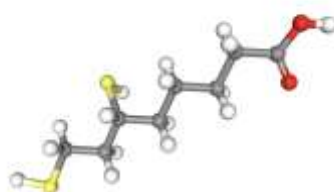
A



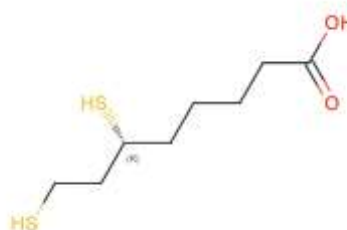
B



C



D



Fonte: RCSB protein data bank (2023).

O déficit colinérgico central tem um papel importante nos déficits de memória e aprendizado observados na demência vascular e na DA. Foi observado em um modelo de demência vascular em animais que o ALA pode aumentar os níveis de Ach no hipocampo através do aumento de sua liberação pelos neurônios, ativação da colina-acetiltransferase e diminuição da atividade da acetilcolinesterase, além de diminuir a apoptose em neurônios

(MACZUREK et al., 2008; ZHAO et al., 2015). A ativação da colina-acetiltransferase pelo ALA aumenta a absorção de glicose, fornecendo mais acetilcoenzima-A para a produção de Ach (HOLMQUIST et al., 2007). O DHLA age também como uma coenzima estimulando a atividade da enzima colina-acetiltransferase (HAUGAARD; LEVIN; SURNAME, 2000).

O ALA apresenta também ação anti-inflamatória, um efeito desejado tendo em vista a importância da neuroinflamação na patogênese da DA. Em um estudo com células de neuroblastoma humano, o ALA diminuiu os níveis de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e IL-1 β) através da modulação do DNA metilação dependente (DINICOLA et al., 2017).

Atualmente, o ALA está disponível comercialmente para uso oral, mas também pode ser produzido para uso endovenoso, tendo efeito clínico neuroprotetor e antioxidante, com bons resultados no tratamento da polineuropatia diabética, mostrando alívio importante da dor neuropática e da parestesia, com baixa toxicidade, apresentando incidência baixa de efeitos colaterais como náusea e rash cutâneo (MAURO et al., 2014; NGUYEN; TAKEMOTO, 2018). Foram evidenciados ainda, efeitos promissores do ALA em pacientes com esquizofrenia e esclerose múltipla, havendo melhora nos testes neurocognitivos nos pacientes com esquizofrenia e diminuição dos níveis de alguns fatores pró-inflamatórios relacionados à progressão da esclerose múltipla (SALEHI et al., 2019). Por ser um potente antioxidante e pelos seus efeitos neuroprotetores, inclusive podendo aumentar os níveis de Ach no hipocampo (MACZUREK et al., 2008; ZHAO et al., 2015), optou-se pela utilização do ALA neste estudo, como droga com potencial para amenizar ou inibir possíveis efeitos deletérios da Sol no SNC.

3 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que o uso crônico de fármacos anticolinérgicos pode produzir efeitos adversos na função cognitiva e no risco de demência principalmente em idosos, os quais são mais suscetíveis a alterações cognitivas (COUPLAND et al., 2019; GRAY et al., 2015; GROSSI et al., 2019; KACHRU et al., 2020; WELK; MCARTHUR, 2020; YANG et al., 2017). O manejo clínico nessa população necessita de maior atenção pelo risco de surgirem efeitos colaterais persistentes, principalmente nos pacientes com comorbidades associadas ou em uso concomitante de mais de uma substância anticolinérgica, o que pode promover um aumento da carga colinérgica total (CHAI; HORTON, 2010; MORTAZAVI et al., 2016; SALAHUDEEN; DUFFULL; NISHTALA, 2015).

Fármacos com atividade anticolinérgica são amplamente usados em adultos e idosos para diversas condições, como bexiga hiperativa, alergias sazonais e depressão. As classes de fármacos anticolinérgicos mais comumente utilizadas são: antimuscarínicos para disfunção miccional, os antidepressivos tricíclicos e anti-histamínicos de primeira geração (GRAY et al., 2015).

A identificação de fármacos que tenham potencial para aumentar o risco de demência e déficit cognitivo é de fundamental importância para a população que necessita utilizar essas drogas cronicamente, como é o caso da solifenacina (Sol), que é um antimuscarínicos para disfunção miccional bastante utilizado na prática clínica para o tratamento de bexiga hiperativa e outras disfunções miccionais (TANAKA; MASUMORI; TSUKAMOTO, 2010). Estudos populacionais têm sugerido que o uso crônico desse fármaco pode estar associado com declínio cognitivo e risco de demência (HARNOD et al., 2021; WELK; MCARTHUR, 2020; YANG et al., 2017). Entretanto, há escassez de estudos clínicos randomizados e pré-clínicos com a Sol que avaliem os efeitos do uso crônico desta substância no SNC, sendo um fator limitante para entender os efeitos deste fármaco no declínio cognitivo, bem como definir a segurança da utilização prolongada de Sol para o SNC (GARELY et al., 2006; HAAB et al., 2005; MANISCALCO et al., 2006).

Considerando esse cenário, a pesquisa pré-clínica é importante no sentido de fornecer informações sobre as alterações neurobiológicas e comportamentais causadas pelo uso crônico da solifenacina, pois permite a avaliação neuroquímica de regiões cerebrais específicas relacionadas à memória e função cognitiva, as quais têm relação com a demência. Além disso,

a identificação de drogas que aumentem o risco de demência e déficit cognitivo pode servir como alvo profilático para evitar esses efeitos colaterais no SNC.

O prejuízo cognitivo associado ou não à DA possui mecanismos neurobiológicos como estresse oxidativo (BERR, 2000), disfunção mitocondrial (MANCUSO et al., 2009), neuroinflamação (AKIYAMA et al., 2000; WANG et al., 2015) e alterações em fatores neurotróficos (LEE; BAEK; KIM, 2015). Nesse aspecto, o ALA surge como uma alternativa no estudo do efeito preventivo do prejuízo cognitivo provocado pelo uso cumulativo de fármacos antimuscarínicos, considerando seus efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e neuroprotetores (DE ARAÚJO et al., 2011; SCHILLACE et al., 2007; SOUSA, 2015). Vários trabalhos do nosso grupo de pesquisa mostram uma importante ação neuroprotetora e antioxidante do ALA (ARAÚJO et al., 2013; SILVA et al., 2016; VASCONCELOS et al., 2015). Como a demência tem uma relação importante com o estresse oxidativo e o processo neuroinflamatório, substâncias com atividade antioxidante, anti-inflamatória e neuroprotetora surgem como possíveis alvos para a terapêutica preventiva ou curativa nos vários tipos de demências vistos na prática clínica. Para tal finalidade, estudos pré-clínicos em animais tanto dos efeitos adversos centrais de agentes antimuscarínicos como dos efeitos preventivos de substâncias antioxidantes e anti-inflamatórias podem ser relevantes.

Dessa forma, essa pesquisa pretende contribuir com achados pré-clínicos que possuam um valor translacional para os pacientes que necessitem utilizar a Sol cronicamente, contribuindo para um melhor entendimento dos efeitos causados por essa droga no SNC, alertando inclusive para a possibilidade de substituição da Sol por terapias que não afetem o SNC em pacientes com maior risco para desenvolver déficit cognitivo ou demência. Pretende-se também, através da associação com uma droga antioxidante e anti-inflamatória como o ALA, criar perspectivas de possíveis estratégias farmacológicas que tenham potencial para combater os efeitos colaterais no SNC causados pela Sol.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos do ácido α -lipóico nas alterações comportamentais e neuroquímicas induzidas pela administração repetida de Sol em camundongos.

4.2 Objetivos específicos

1. Comparar as alterações comportamentais e neuroquímicos da Sol em camundongos fêmeas em diferentes durações de tratamento (14 ou 28 dias) e diferentes doses dessa substância (1mg/kg ou 2mg/kg).
2. Investigar os efeitos do ALA nas alterações comportamentais induzidas pela Sol.
3. Determinar os efeitos do ALA nas alterações enzimáticas, oxidativas e neuroinflamatórias induzidas pela administração repetida de Sol, no córtex pré-frontal, corpo estriado e hipocampo de camundongos fêmeas.

Para fins didáticos, serão apresentados a seguir os dois artigos derivados dessa tese em forma de capítulos.

5. CAPÍTULOS

Com o intuito de avaliar os possíveis efeitos da Sol sobre a cognição ou risco de demência e tentar esclarecer se esse risco é significativo mesmo em um fármaco com maior seletividade para receptores muscarínicos M3 como a Sol, publicamos o artigo de revisão exposto no capítulo 1 (ARTIGO I).

A seguir, no ARTIGO II, estão expostas, através de artigo submetido à revista *Metabolic Brain Disease* (ARTIGO II), as informações referentes ao delineamento e procedimentos experimentais, análise estatística, resultados dos experimentos, discussão e conclusão dessa pesquisa. Foram incluídos também os dados referentes aos níveis de acetilcolinesterase no HC, CPF e CE e de IL-1 β e TNF- α no HC, os quais foram finalizados após a submissão do artigo.

5.1 Capítulo I

Treating bladder dysfunction with solifenacin: is there a risk for dementia or cognitive impairment?

[Tratando a disfunção vesical com solifenacina: existe risco de demência ou comprometimento cognitivo?]

Artigo publicado em 2022 na revista *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* - Qualis A3

PMID: 35320336, PMCID: PMC8851948, DOI: 10.1590/1414-431X2021e11721

ARTIGO I

Tratando a disfunção vesical com solifenacina: existe risco de demência ou comprometimento cognitivo?

L.P. Dantas¹, A.R.C.C. Forte¹, B.C. Lima¹, C.N.S. Sousa¹, E.C. Vasconcelos¹, P.H.C. Lessa²,
R.F. Vieira², M.C.A. Patrocínio^{3,4} and S.M.M. Vasconcelos¹

¹Laboratório de Neuropsicofarmacologia, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

² Universidade Federal do Amapá, Macapá, AP, Brasil

³ Faculdade de Medicina, Centro Universitário Christus - Unichristus, Fortaleza, CE, Brasil

⁴ Departamento de Anestesiologia, Instituto Dr. Jose Frota - IJF, Fortaleza, CE, Brasil

Palavras-chave: Solifenacina, demência, déficit cognitivo, anticolinérgicos.

Título corrente: Solifenacina e risco de demência e comprometimento cognitivo

Resumo

O uso de antimuscarínicos para tratamento de disfunções miccionais (antimuscarínicos para bexiga) é muito comum em idosos. No entanto, estudos populacionais recentes que avaliaram o uso de anticolinérgicos ou antimuscarínicos para bexiga mostraram um risco aumentado na incidência de demência quando esses medicamentos foram usados por um período prolongado. Vários desses estudos populacionais incluíram pacientes que faziam uso de solifenacina, que é um antimuscarínico para bexiga lançado em 2005 com a perspectiva de ser um antimuscarínico mais seletivo para receptores M3 (M3R), o que poderia torná-lo um medicamento mais seguro ao tentar evitar efeitos indesejados de antimuscarínicos mais antigos, como a oxibutinina, especialmente no que diz respeito a alterações na cognição. Como os vários antimuscarínicos para bexiga têm características farmacológicas distintas, como capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, diferenças na seletividade para receptores muscarínicos e mecanismos de efluxo cerebral, seus efeitos sobre o sistema nervoso central podem variar. Portanto, é necessário avaliar os efeitos sobre a cognição e o risco de demência de cada substância separadamente. A solifenacina foi o fármaco selecionado nesta revisão, que visa descrever os resultados de vários artigos publicados nos últimos anos relatando os efeitos da solifenacina na cognição ou risco para o desenvolvimento de demência. Embora estudos pré-clínicos mostrem que a solifenacina pode atuar também nos receptores cerebrais M1 (M1R), estudos clínicos de curto prazo demonstraram segurança em relação aos seus efeitos sobre a cognição. Estudos que usaram a solifenacina clinicamente por um curto período de até 4 meses não mostraram alterações na cognição ou aumento na incidência de demência. No entanto, não existem estudos randomizados de longo prazo que comprovem a segurança desse medicamento em relação aos seus efeitos sobre o sistema nervoso central. Assim, até que estudos de longo prazo demonstrem a segurança da solifenacina, parece prudente evitar o uso prolongado dessa droga em pacientes idosos.

Introdução

Recentemente, alguns estudos populacionais foram publicados associando o uso de antimuscarínicos em idosos (incluindo antimuscarínicos para o tratamento da disfunção miccional) com aumento da incidência de demência e também aumento da mortalidade (COUPLAND et al., 2019; GRAY et al., 2015; GROSSI et al., 2019; KACHRU et al., 2020; WELK; MCARTHUR, 2020; YANG et al., 2017). O uso de anticolinérgicos em idosos tem sido frequente, chegando a 33% na população idosa com demência (ROE; ANDERSON; SPIVACK, 2003).

Como a incidência de bexiga hiperativa (BH) e incontinência urinária também aumenta com a idade, é comum observar a coexistência de disfunções miccionais e demência em pacientes idosos e também um alto uso de antimuscarínicos para bexiga nessa população (ORME et al., 2015). Em um estudo que avaliou 3,78 milhões de idosos com demência, com 65 ou mais anos de idade, foi relatado que 1,02 milhão (26,9%) fazia uso de medicamentos anticolinérgicos potencialmente inapropriados, sendo os medicamentos mais prescritos a oxibutinina, solifenacina, paroxetina, tolterodina, prometazina e ciclobenzaprina, mostrando alta prevalência de prescrição de antimuscarínicos para bexiga nessa idade (KACHRU et al., 2015). Porém, a avaliação de cada um desses antimuscarínicos em relação aos seus efeitos no sistema nervoso central (SNC) deve levar em consideração cada fármaco individualmente, pois os diferentes antimuscarínicos possuem características farmacológicas específicas que podem interferir na concentração e ação do fármaco no SNC (YAMADA et al., 2018).

A solifenacina, aprovada para uso clínico em 2005, é um dos antimuscarínicos mais utilizados para o tratamento da disfunção da bexiga (KINLAW et al., 2018; MARGULIS et al., 2018; MILSOM et al., 2019; YEOWELL et al., 2018) e tem sido associada à possibilidade de alterações na cognição (COUPLAND et al., 2019; GRAY et al., 2015; HARNOD et al., 2021; YANG et al., 2017). Portanto, objetivou-se revisar a literatura sobre os efeitos da solifenacina na cognição ou no risco de demência e tentar esclarecer se esse risco de demência é significativo mesmo em uma substância com maior seletividade para receptores M3 (M3R), como a solifenacina.

Material e métodos

Para este artigo de revisão realizou-se uma pesquisa usando os bancos de dados PubMed e SCOPUS com as seguintes palavras-chave: “*solifenacin*” ou “*anticholinergics*” ou

“antimuscarinics” mais “*dementia*” ou “Alzheimer” ou “*cognition*” ou “*cognitive impairment*”. Foram avaliados estudos pré-clínicos e ensaios clínicos, com foco na solifenacina.

Mecanismos colinérgicos na demência

A demência é uma síndrome clínica heterogênea que pode ser classificada em quatro subtipos principais: doença de Alzheimer (DA), demência vascular, demência frontotemporal e demência por corpúsculos de Lewy, sendo a DA a mais comum (CHIU et al., 2006). Existem outras causas de comprometimento cognitivo leve (cognição prejudicada sem declínio das funções diárias) e demência que podem surgir ao longo da vida, como deficiência de vitaminas (tiamina, vitamina B12), hipotireoidismo, hidrocefalia com pressão normal, alcoolismo, infecções (HIV, por exemplo), massas intracranianas, lesão cerebral devido a trauma (GALE; ACAR; DAFFNER, 2018). Também pode-se destacar a importância do uso de alguns medicamentos em idosos com potencial efeito deletério sobre o SNC, como os anticolinérgicos (FICK et al., 2019).

A acetilcolina é um neurotransmissor amplamente distribuído no SNC (Tabela 1) que se liga a receptores muscarínicos cerebrais (M1R, M2R, M3R, M4R, M5R) e é essencial para a função cognitiva, sendo abundante no hipocampo e com importante papel mediador na formação da memória semântica e episódica, tendo sido associada a demências relacionadas com a idade, como ocorre na DA, onde o sistema colinérgico é bastante comprometido (HAAM; YAKEL, 2017). A atrofia do sistema colinérgico pode ser observada no prosencéfalo basal de pacientes com DA inicial, com diminuição do número de neurônios colinérgicos e da transcrição da enzima colina-acetiltransferase, necessária para a síntese de acetilcolina no cérebro (GROTHER; HEINSEN; TEIPEL, 2012; TEIPEL et al., 2014; WHITEHOUSE et al., 1982). Uma diminuição no número de receptores colinérgicos e na ligação da acetilcolina no hipocampo também foi observada em pacientes com DA (PARENT et al., 2013).

Outro fator que corrobora para a importância da acetilcolina na preservação da memória é o fato de que em pacientes com DA costuma haver melhora da memória, mesmo que não duradoura, durante o início do tratamento com inibidores da acetilcolinesterase como donepezil, rivastigmina e galantamina (EHRET; CHAMBERLIN, 2015). Além disso, quando os receptores muscarínicos são bloqueados com escopolamina, a codificação da memória é prejudicada (NEWMAN; GOLD, 2016).

Fatores que influenciam a ação dos antimuscarínicos para bexiga no SNC e características farmacológicas da solifenacina

A escolha do anticolinérgico mais seguro para o SNC envolve as seguintes variáveis: menor capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), ser substrato para a glicoproteína-P e menor afinidade pelo receptor muscarínico M1R, o qual está mais relacionado ao comprometimento cognitivo (ARAKLITIS et al., 2017; VOURI et al., 2018). A glicoproteína-P é responsável por um transporte de efluxo cerebral, bombeando moléculas para fora do SNC e influenciando o acúmulo de drogas no SNC (ARAKLITIS et al., 2017). A BHE torna-se mais permissiva em condições como envelhecimento, acidente vascular cerebral, diabetes, trauma, esclerose múltipla, DA e doença de Parkinson (VOURI et al., 2018; WAGG, 2013). A permeabilidade da BHE é diretamente proporcional à idade do paciente devido ao encolhimento das células epiteliais e à abertura das junções apertadas (ARAKLITIS et al., 2017). Moléculas hidrofóbicas, lipofílicas, de carga neutra e menores que 400 Da são mais fáceis de penetrar no SNC (ABRAMS; ANDERSSON, 2007). Em pacientes idosos, também há menos receptores muscarínicos no SNC, o que pode aumentar os efeitos dos antimuscarínicos para bexiga no cérebro (WAGG et al., 2013). A farmacocinética de cada droga também pode mudar com a idade. Um estudo com dose múltipla de solifenacina (5 ou 10mg) em voluntários idosos (65 a 80 anos), por exemplo, mostrou que os valores da $C_{m\acute{a}x}$ (concentração máxima) e AUC (área sob a curva concentração plasmática-tempo 0-24h) foram 16% e 20% maiores, respectivamente, quando comparados com voluntários mais jovens (18 a 55 anos); o $t_{1/2}$ na dose de 5mg subiu de 59h nos homens mais jovens para 75h em homens idosos e de 53h para 68h em mulheres (KRAUWINKEL et al., 2005).

O succinato de solifenacina é um sal ácido butanedioico com peso molecular de 480.5 Da, levemente básico (pK_a 8.5), altamente lipofílico com uma distribuição octanol:água de 50:1 no pH7.0, sendo 93% positivamente carregado em um pH7.4 (KRAUWINKEL et al., 2005). A solifenacina, como a darifenacina, é uma amina terciária maior do que outros agentes antimuscarínicos como a oxibutinina, apresentando penetração menos significativa através da BHE (KOSILOV et al., 2018a). No entanto, a solifenacina não possui mecanismo de efluxo cerebral como a darifenacina, transportada pela glicoproteína-P, e o cloreto de tróspio, transportado por uma proteína associada à multirresistência (MRP), o que favorece seu acúmulo no SNC (KAY; EBINGER, 2008).

Tabela 1. Distribuição, ação no SNC e efeitos da solifenacina nos subtipos de receptores muscarínicos (M1R–M5R)

RECEPTOR	DISTRIBUIÇÃO	AÇÃO/SNC	EFEITO DA SOLIFENACINA
M1R	SNC; nódulos periféricos; glândulas	Aprendizagem e memória; controle motor	↓
M2R	SNC; coração; músculo liso; terminais nervosos autônomos	Aprendizagem e memória; controle motor; inibição neural; analgesia	↓
M3R	SNC; coração; glândulas; músculo liso; endotélio	Controle motor; comportamento social; peso corporal	↑
M4R	Preferencialmente no SNC	Controle motor; analgesia	↓
M5R	SNC Tecidos não neuronais (fibroblastos e queratinócitos da pele, células endoteliais, músculo liso e linfócitos)	Aumenta a atividade neuronal; controle motor; recompensa e dependência de drogas	↓

Efeitos altos (↑); efeitos baixos (↓). SNC: sistema nervoso central.

As disfunções cognitivas induzidas por agentes antimuscarínicos são mediadas principalmente pelos receptores M1R e M2R no SNC (KAY et al., 2006). Se M1R e M2R estiverem bloqueados, podem haver alterações na função cognitiva, como déficit de aprendizado e memória (ARAKLITIS et al., 2017). Nesse sentido, uma vez atravessada a BHE, a solifenacina liga-se a todos os receptores muscarínicos, mas apresenta afinidade e especificidade relativamente maiores para o subtipo muscarínico M3R (afinidade pK₁ 8.0), em comparação com o subtipo M1R (afinidade pK_i 7.6) e M2R (afinidade pK_i 6,9) (IKEDA et al., 2002; OHTAKE et al., 2007; PAGORIA; O'CONNOR; GURALNICK, 2011).

Assim, apesar de ser mais seletiva para M3R, a solifenacina também se liga a M1R e M2R (IKEDA et al., 2002; OHTAKE et al., 2007; PAGORIA; O'CONNOR; GURALNICK, 2011) e não possui mecanismo de efluxo cerebral (KAY; EBINGER, 2008), o que poderia favorecer seu acúmulo no SNC e proporcionar efeitos deletérios a longo prazo, principalmente em idosos, que possuem maior permeabilidade da BHE e também menor número de receptores muscarínicos no SNC (ARAKLITIS et al., 2017; WAGG, 2013).

O metabolismo e a eliminação da solifenacina ocorrem principalmente por mecanismos não renais, sendo esta droga metabolizada principalmente no fígado com a produção de 4 metabólitos: M2 (N-óxido de solifenacina), M3 (4R-hidroxisolifenacina), M4 (4R-hidroxi N-óxido de solifenacina) e M5 (N-glucuronídeo de solifenacina)

(DOROSHYENKO; FUHR, 2009). Os metabólitos M2, M4 e M5 são inativos, sem atividade farmacológica (DOROSHYENKO; FUHR, 2009). Embora o metabólito M3 tenha afinidade por receptores muscarínicos semelhante à solifenacina (maior afinidade por M3R), ele apresenta concentrações plasmáticas muito baixas e baixa potência, sendo seu efeito clínico não significativo (ABRAMS; ANDERSSON, 2007; DOROSHYENKO; FUHR, 2009; KRAUWINKEL et al., 2005).

Dois estudos mostraram achados diferentes quanto à possibilidade da solifenacina penetrar a BHE. Callegari e colaboradores relataram que dos antimuscarínicos utilizados no tratamento da BH, os de maior concentração cerebral foram a oxibutinina, a solifenacina e a tolterodina (CALLEGARI et al., 2011). Suzuki e colaboradores, por outro lado, relataram que a solifenacina foi raramente observada no cérebro de ratos, o que pode indicar que ela não penetra significativamente a BHE (SUZUKI et al., 2007). Neste estudo, foram utilizados ratos Wistar com 8 semanas de idade e a solifenacina foi administrada por via intravenosa 10 minutos antes dos testes de aquisição. Deve-se considerar que o fato de terem sido utilizados ratos jovens (8 semanas de idade) e não animais mais velhos ou em período de senescência, o que seria equivalente à faixa etária em humanos que mais comumente utiliza solifenacina, pode ter influenciado a passagem de solifenacina através de BHE (ABRAMS et al., 2006; ARAKLITIS et al., 2017; WAGG, 2013). Além disso, o uso único de solifenacina 10 minutos antes do ensaio pode ter sido insuficiente para proporcionar efeitos deletérios na memória, já que em estudos populacionais esses efeitos são mais evidentes com o uso crônico de medicamentos como os antimuscarínicos para bexiga (COUPLAND et al., 2019; GRAY et al., 2015; HARNOD et al., 2021; WELK; MCARTHUR, 2020).

Efeitos da solifenacina no SNC

A influência da solifenacina e de outros agentes antimuscarínicos nos receptores muscarínicos no cérebro foi avaliada *in vitro*. Jakobsen e colaboradores utilizaram um bioensaio de rádio receptor para comparar as concentrações séricas de antimuscarínicos usados no tratamento da BH com a atividade anticolinérgica cerebral. Eles utilizaram tolterodina, oxibutinina, solifenacina, darifenacina e 5-hidroxi-metil-tolterodina (5-HMT; o metabólito ativo da fesoterodina). A tolterodina e o 5-HMT apresentaram a maior atividade anticolinérgica, seguidos pela oxibutinina. A solifenacina teve uma das atividades anticolinérgicas mais baixas, superando apenas a darifenacina (JAKOBSEN; KERSTEN; MOLDEN, 2011). Um estudo de Suzuki e colaboradores, onde foi testado o efeito de várias drogas antimuscarínicas na

aprendizagem realizando um teste de esQUIVA passiva em ratos, apresentou evidências de que a oxibutinina e a propiverina afetaram a aprendizagem de maneira dose-dependente. A darifenacina e a solifenacina não afetaram a aprendizagem, de acordo com esse teste (SUZUKI et al., 2007).

Um estudo de Kobayashi e colaboradores mostra que os efeitos inibitórios da solifenacina na mobilização de Ca^{2+} estimulada pelo carbacol são equivalentes aos da oxibutinina nas células detrusoras, mas muito mais fracos nas células da glândula submandibular, sugerindo que a solifenacina tem seletividade farmacológica para bexiga em relação a outros tecidos (KOBAYASHI; IKEDA; MIYATA, 2004). Maruyama e colaboradores avaliaram os valores de RO50 (a dose intravenosa para 50% de ocupação do receptor muscarínico no cérebro) e a potência inibitória de aumentos na pressão intravesical (ID50) em um estudo *in vivo* em ratos com injeções intravenosas de oxibutinina, propiverina, tolterodina e solifenacina, através de estudo autorradiográfico quantitativo. Considerando a razão de dose (RO50/ID50) como reflexo da seletividade do agente antimuscarínico vesical no cérebro, observou-se que essa razão foi maior para solifenacina (8,1 - 46,7), tolterodina (3,6 -17,9) e propiverina (2,2 - 8,9) do que para a oxibutinina (1,4-3,4), mostrando que a solifenacina tem maior seletividade para a bexiga (MARUYAMA et al., 2008). A Tabela 2 resume esses estudos *in vitro* e em animais.

Apesar da preocupação com o uso de antimuscarínicos em idosos, existem estudos clínicos que demonstram a segurança do uso da solifenacina em relação à cognição. Um estudo randomizado, duplo-cego e com cruzamento triplo de Wagg e colaboradores com 26 pacientes com mais de 75 anos de idade e com comprometimento cognitivo leve, comparando solifenacina 5mg uma vez ao dia, oxibutinina 5mg duas vezes ao dia ou placebo, durante três períodos de tratamento de 21 dias cada, separados por períodos sem tratamento de 21 dias, concluiu que a solifenacina não teve efeito detectável na cognição, enquanto a oxibutinina foi associada a uma diminuição estatisticamente significativa no poder e na continuidade da atenção. Os principais efeitos colaterais foram leves, como boca seca e dispepsia (WAGG et al., 2013).

Tabela 2. Estudos com solifenacina *in vitro* e em animais

Referência	Tipo	Droga	Duração do tratamento	Resultados
Callegari et al., 2011 [28]	Ratos Sprague-Dawley machos	5-HMT, darifenacina, oxibutinina, solifenacina, tolterodina, tróspio	Dose única da droga por via subcutânea 1 hora antes da eutanásia dos animais	A penetração cerebral foi significativa para oxibutinina, solifenacina e tolterodina
Jakobsen et al., 2011 [30]	<i>In vitro</i> (bioensaio de radio receptores anticolinérgicos)	5-HMT, darifenacina, oxibutinina, solifenacina, tolterodina	ND	A solifenacina e a darifenacina exibiram a menor atividade anticolinérgica em comparação com as outras drogas testadas
Suzuki et al., 2007 [29]	Ratos Wistar machos	Darifenacina, oxibutinina, propiverina, solifenacina, tolterodina	As drogas foram administradas por via intravenosa 10 minutos antes dos testes de aquisição	A solifenacina não afetou o aprendizado no teste de esQUIVA passiva em ratos
Maruyama et al., 2008 [32]	Ratos Sprague-Dawley machos	Darifenacina, oxibutinina, propiverina, solifenacina, tolterodina	Dose única do composto por via intravenosa 40 minutos antes da eutanásia dos animais	A solifenacina tem maior seletividade para a bexiga que para o cérebro em comparação com esses outros antimuscarínicos

5-HMT: 5-hidroximetil tolterodina (o metabólito ativo da fesoterodina); ND: não disponível.

Em outro estudo randomizado, Kosilov e colaboradores (2018a) avaliaram 262 pacientes do sexo masculino, com idades entre 52 e 79 anos, diagnosticados com hiperplasia prostática benigna e BH, com pontuação mínima de 24 pontos na escala *Mini-mental State Examination* (MMSE). Esses pacientes foram divididos em três grupos nos quais foram aplicadas a mesma dose de tansulosina (0,4mg) e diferentes doses de solifenacina (10 e 20mg) e placebo. Após 8 semanas de estudo, não houve variação estatisticamente significativa em relação às alterações cognitivas (KOSILOV et al., 2018a). Resultados semelhantes foram encontrados em outro estudo de Kosilov e colaboradores (2018b) com 312 mulheres, com idades entre 60 e 83 anos, com incontinência urinária de urgência ou incontinência urinária mista, com pelo menos 24 pontos na escala MMSE, que foram randomizadas para solifenacina 20mg ao dia e tróspio 60mg ao dia, solifenacina 10mg ao dia e tróspio 30mg ao dia ou placebo. Após um período de tratamento de 8 semanas, não houve risco aumentado de comprometimento cognitivo (KOSILOV et al., 2018b). O estudo de Wesnes e colaboradores analisou o risco de comprometimento cognitivo em idosos comparando o uso de 10mg de solifenacina, 10mg de oxibutinina e placebo, sem evidência de comprometimento cognitivo com o uso de 10mg de solifenacina em relação ao grupo placebo. A oxibutinina, por outro lado, foi associada a funções cognitivas prejudicadas, particularmente em relação à atenção prejudicada e capacidade de atenção sustentada, memória de trabalho e autoavaliação de alerta. Os efeitos adversos foram 15 eventos em 10 indivíduos tomando oxibutinina e apenas 3 eventos em 3 indivíduos tomando solifenacina, com sonolência como o único efeito adverso (WESNES et al., 2009). O estudo

VEGA foi outra investigação dos efeitos cognitivos da solifenacina na população idosa. Este foi um estudo observacional com 774 pacientes com mais de 70 anos de idade e BH, que foram tratados com solifenacina 5 ou 10mg por dia. Após 12 semanas de tratamento, nenhuma diferença foi observada na função cognitiva avaliada com a escala MMSE (HAMPEL et al., 2017). O uso de solifenacina em pacientes com acidente vascular cerebral também foi avaliado. Park conduziu um estudo de acompanhamento de pacientes com acidente vascular cerebral apresentando sintomas de urgência e frequência urinária. 66 pacientes receberam solifenacina (5 ou 10 mg) e um grupo controle pareado por idade e sexo de 66 indivíduos recebeu placebo por 2 meses. Nenhuma diferença significativa na função cognitiva foi relatada entre os grupos (PARK, 2013).

Os resultados desses estudos mostram que o uso de solifenacina em um tratamento de curto prazo (2 a 4 meses) é seguro, mesmo na população idosa que usa altas doses diárias de solifenacina, como 20 a 30 mg por dia (ver Tabela 3 para uma visão geral).

Apesar da segurança demonstrada em tratamentos curtos, não há estudos de acompanhamento de longo prazo que avaliem especificamente o uso crônico de solifenacina e seus efeitos na cognição. Os estudos que investigam os efeitos de longo prazo dos anticolinérgicos no SNC restringem-se a agrupar e avaliar drogas em categorias como antimuscarínicos para bexiga, por exemplo, o que não leva em consideração as diferenças moleculares entre cada droga que podem impactar na farmacocinética e na ação sobre o SNC.

Tabela 3. Estudos de curto prazo em humanos com antimuscarínicos para bexiga (incluindo solifenacina)

Referência	Desenho do estudo	Número de pacientes	Características dos pacientes	Antimuscarínicos	Duração do tratamento	Resumo dos resultados
Westen et al., 2009	Ensaios randomizados, duplo-cego, placebo-controlado	12 pacientes	Mais de 65 anos de idade	SOL 10mg, OX1 10mg e PLA	3 períodos cruzados de tratamento de dose única separados por 2 períodos de 14 dias sem tratamento	Nenhuma evidência de comprometimento cognitivo com o uso de solifenacina 10mg em comparação com o grupo placebo. A oxibutinina foi associada a funções cognitivas prejudicadas (comprometimento da atenção, capacidade de atenção contínua, memória de trabalho e autoavaliação de alerta).
Wagge et al., 2013	Ensaios randomizados, duplo-cego, tripla-cruzado	26 pacientes	Pacientes com mais de 75 anos de idade e com comprometimento cognitivo leve	SOL 5mg uma vez ao dia, OX1 5 mg duas vezes ao dia ou PLA	3 períodos de tratamento de 21 dias cada, separados por períodos sem tratamento de 21 dias	A solifenacina não teve efeito detectável na cognição, enquanto a oxibutinina foi associada a uma diminuição estatisticamente significativa no poder e na continuidade da atenção.
Koslov et al., 2018	Ensaios randomizados 3 grupos	262 pacientes	Pacientes do sexo masculino com idade entre 52 e 79 anos e diagnóstico de HBP e BPH, com pelo menos 24 pontos na MMSEs	Mesmo dosagem de TAM (0,4mg) e diferentes dosagens de SOL (10 ou 20mg) e PLA foram aplicadas: SOL 10mg + TAM ou SOL 20mg + TAM ou PLA + TAM	8 semanas	Nenhuma variação estatisticamente significativa em relação às alterações cognitivas
Koslov et al., 2019	Ensaios randomizados 3 grupos	312 pacientes	Mulheres, com idade entre 60 e 83 anos, com incontinência urinária de urgência ou incontinência urinária mista, com pelo menos 24 pontos na MMSEs	SOL 20mg por dia e TRIO 60mg por dia, SOL 10mg por dia e TRIO 30mg por dia ou placebo: SOL 20mg/dia ou TRIO 30mg/dia ou PLA, SOL 10mg/dia ou TRIO 30mg/dia ou PLA	8 semanas	Nenhum aumento no risco de comprometimento cognitivo
Park, Jin-woo, 2013	Ensaios de caso-controle retrospectivo	66 pacientes com AVC, 66 pacientes no grupo controle	Pacientes com AVC apresentando sintomas de urgência e frequência urinária	SOL 5 ou 10mg/dia ou PLA	2 meses de solifenacina	O tratamento com solifenacina não afetou o desempenho cognitivo de curto prazo (avaliado com MMSEs ou CDR-SB) em pacientes com AVC
Tsiaznytyluba et al., 2018	Revisão sistemática	4 estudos	Uso duplo de inibidores da colinesterase e anticolinérgicos urinários em adultos mais velhos	Uso concomitante de inibidores da colinesterase e anticolinérgicos urinários	NA	Inconclusivo: sem alterações na cognição nos 3 estudos avaliados. Apenas um estudo mostrando melhora da cognição com altas doses de donepezil e solifenacina
Hampel et al., 2017 (AVEGA study)	Ensaios observacionais	774 pacientes	Pacientes com idade ≥70 anos e com BPH	SOL 5 ou 10mg/dia	12 semanas	Nenhum efeito relevante da solifenacina na função cognitiva na MMSEs foi observado nesta população idosa

AVC: acidente vascular cerebral; BPH: bexiga hiperplásica; CDR-SB: *Clinical Dementia Rating Sum of Boxes*; HBP: hipertensão; prolapso da bexiga; MMSEs: escala *Mini-mental State Examination*; NA: não avaliado ou não disponível; OX1: oxibutinina; PLA: placebo; SOL: solifenacina; TAM: transdutor; TRIO: triopride.

Coupland e colaboradores conduziram um estudo de coorte caso-controle de 2004 a 2016 com 58.769 casos (diagnosticados com demência durante o acompanhamento) e 225.574 controles pareados. Eles observaram que a exposição a vários tipos de drogas anticolinérgicas fortes está associada a um risco aumentado de demência. Houve um aumento significativo no risco de demência associado aos antimuscarínicos para bexiga, que foi proporcional ao total de doses diárias padronizadas (TSDDs) que refletem a quantidade de exposição do paciente ao medicamento, com uma razão de chances ajustada (aOR) de 1,65 na categoria de exposição mais alta (TSDDs > 1095). A aOR para o TSDDs menor que 90 foi de 1,19; para o TSDDs entre 91 e 365 a aOR foi de 1,35 e para o TSDDs entre 366 e 1095 a aOR foi de 1,65 (COUPLAND et al., 2019). Isso significa que uma exposição mais curta a esses antimuscarínicos pode não refletir os mesmos efeitos percebidos com o uso prolongado. Em outro estudo de caso-controle usando o *UK's Clinical Practice Research Datalink*, Richardson e colaboradores avaliaram a associação de pacientes recém-diagnosticados com demência com uso prévio de anticolinérgicos 4 a 20 anos antes do diagnóstico de demência. Um total de 40.770 casos e 283.933 pacientes controle, com idades entre 65 e 99 anos, foram incluídos no estudo. Eles concluíram que houve uma associação significativa entre a incidência de demência e a prescrição de antidepressivos, antiparkinsonianos ou medicamentos urológicos com escore ACB (*Anticholinergic Cognitive Burden*) de 3. Os medicamentos urológicos ACB 3 (oxibutinina e tolterodina foram 2 dos 5 anticolinérgicos mais comumente prescritos neste estudo) prescritos 15 a 20 anos antes do diagnóstico de demência mostraram uma associação significativa com a incidência de demência com uma razão de chances de 1,27 (RICHARDSON et al., 2018). Embora este estudo não mencione a solifenacina, é importante lembrar que esta droga é classificada como ACB 3 devido à sua alta atividade anticolinérgica (SALAHUDEEN; DUFFULL; NISHTALA, 2015).

Gray e colaboradores realizaram um estudo de coorte prospectivo no qual avaliaram 3.434 pacientes com 65 anos ou mais sem demência no início do estudo. Eles foram acompanhados por pelo menos 10 anos. Durante este estudo, 797 participantes (23%) desenvolveram demência e houve uma relação entre o uso cumulativo de anticolinérgicos e a incidência de demência. Essa relação foi proporcional ao TSDDs de anticolinérgicos dispensados nos últimos 10 anos, com uma razão de risco ajustada (aHR) para risco de incidência de demência de 1,54 (intervalo de confiança - IC - de 95%, 1,21-1,96) com uso cumulativo de anticolinérgico com TSDDs > 1095 (mais de 3 anos de uso) e apenas 0,92 de aHR (IC 95%, 0,74-1,16) para TSDDs entre 1 e 90. A aHR para o uso cumulativo de anticolinérgicos com TSDDs entre 91 e 365 foi de 1,19 (IC 95%, 0,94-1,51) e a aHR para

TSDDs entre 366 e 1095 foi de 1,23 (IC 95%, 0,94-1,62). Neste estudo, 19% dos pacientes usaram antimuscarínicos para bexiga, os quais foram associados a um risco aumentado de desenvolver demência (GRAY et al., 2015). Em um estudo de caso-controle retrospectivo de base populacional avaliando 1 milhão de pessoas em Taiwan, foram examinados os efeitos dos antimuscarínicos para bexiga no desenvolvimento de demência. O estudo acompanhou pacientes com diagnóstico de demência (20.246) e um grupo controle sem demência (40.394 pacientes) entre 2000 e 2013, com idade superior a 55 anos e média de idade de 77 anos, e excluiu pacientes que faziam uso de antimuscarínicos há menos de 1 ano. Os antimuscarínicos para bexiga avaliados neste estudo foram oxibutinina, solifenacina, tolterodina, propiverina, tróspio, darifenacina e fesoterodina. Os pacientes que usaram esses medicamentos exibiram um risco 2,46 vezes maior de demência em comparação com os não usuários (IC 95%, 2,22–2,73) (HARNOD et al., 2021). Dada a predisposição de eventos de demência em pacientes diabéticos, os quais também apresentam maior incidência de BH, Yang e colaboradores estudaram a associação de anticolinérgicos usados no tratamento da BH com a incidência de demência. Neste estudo de coorte, 10.938 pacientes usando anticolinérgicos para BH (oxibutinina, solifenacina ou tolterodina) por mais de 28 doses diárias cumulativas foram comparados com 594.733 pacientes que não usavam esses medicamentos. Ao final do período de 6 anos, 7.774 pacientes apresentavam demência. A taxa de eventos de demência nesse período foi de 3,9% no grupo oxibutinina, 4,3% no grupo solifenacina, 2,2% no grupo tolterodina e 1,2% no grupo controle ($p < 0,001$). A aHR em comparação com não usuários de drogas anticolinérgicas foi de 2,35 (IC 95%, 1,96 a 2,81) para oxibutinina, 2,24 (IC 95%, 1,85 a 2,73) para tolterodina e 2,16 (IC 95%, 1,81 a 2,58) para solifenacina, mostrando que o uso de solifenacina em pacientes diabéticos aumenta o risco relativo para posterior diagnóstico de demência, embora seja menor em relação aos demais antimuscarínicos avaliados (YANG et al., 2017).

Estes estudos populacionais mostraram um aumento do risco de demência que foi observado em pacientes tomando antimuscarínicos para bexiga (incluindo solifenacina) por um período superior a 1 ano, ou mesmo por período mais curto em pacientes diabéticos e isso deve ser levado em consideração ao se avaliar o risco-benefício do uso desses medicamentos na população idosa (ver Tabela 4). Também é importante considerar o uso concomitante de outras drogas anticolinérgicas, tendo em mente a carga colinérgica total, ou seja, o efeito cumulativo de tomar um ou mais medicamentos com propriedades anticolinérgicas (SALAHUDEEN; DUFFULL; NISHTALA, 2015). Esses estudos não mencionaram diferenças na incidência de demência relacionadas ao sexo.

Tabela 4. Estudos populacionais avaliando os efeitos de anticolinérgicos e antimuscarínicos para bexiga na função cognitiva

Referência	Delimitamento experimental	Período de observação/população avaliada	Características da população estudada	Drogas pesquisadas	Resumo dos resultados
Yoon et al., 2018	Estudo retrospectivo	2008 a 2011	42.886 pacientes	Antimuscarínicos	33% deles receberam oxibutina como terapia inicial. Antes do tratamento, comprometimento cognitivo em 23,9%. Fim do estudo: comprometimento cognitivo em 41,1%.
Coughland et al., 2019	Estudo de caso-controle de coorte aninhado	2004 a 2016	58.769 pacientes casos (diagnosticados com demência durante o acompanhamento) 225.574 pacientes controle correspondentes	Drogas anticolinérgicas fortes	Drogas anticolinérgicas fortes foram associadas a um risco aumentado de demência. Risco de demência: TSDDs < 90: aOR 1,19 TSDDs 91-365: aOR 1,35 TSDDs 366-1095: aOR 1,65 TSDDs > 1095: aOR 1,65
Richardson et al., 2018	Estudo de caso-controle aninhado	Um período de anticolinérgicos 4 a 20 anos antes do diagnóstico de demência	40.770 casos e 283.933 pacientes controle	Anticolinérgicos	Houve uma associação significativa (aOR 1,27) entre a incidência de demência e a prescrição de medicamentos urrológicos AChE 3, 15 a 20 anos antes do diagnóstico de demência.
Gray et al., 2015	Estudo de coorte prospectivo	Seguimento ≥10 anos	3.434 pacientes. Características: 65 anos ou mais sem demência na entrada do estudo	Anticolinérgicos (19% dos pacientes usaram antimuscarínicos para bexiga)	Houve uma relação entre o uso cumulativo de anticolinérgicos e a incidência de demência. Risco de demência: TSDDs < 90: aHR 0,92 TSDDs 91-365: aHR 1,19 TSDDs 366-1095: aHR 1,23 TSDDs > 1095: aHR 1,34
Harnod et al., 2021	Estudo populacional de caso-controle retrospectivo	2000 a 2013	Pacientes diagnosticados com demência: 20.246 Grupo controle sem demência: 40.394 pacientes	Oxibutina, solifenacina, tolterodina, propiverina, tiropró, darifenacina e fesoterodina	Risco 2,46 vezes maior de demência em pacientes que usaram antimuscarínicos para bexiga por ≥ 1 ano, em comparação com não usuários de anticolinérgicos.
Yang et al., 2017	Estudo de coorte	2002 a 2013	10.938 pacientes diabéticos em uso de antimuscarínicos para bexiga 564.733 pacientes controle diabéticos	Antimuscarínicos para bexiga (oxibutina, solifenacina ou tolterodina) para >28 DDDs	A aHR de demência foi significativamente maior entre os pacientes que receberam qualquer um desses medicamentos anticolinérgicos por > 28 DDDs. A aHR em comparação com não usuários foi de 2,16 (95% CI: 1,81 a 2,58) para pacientes tomando solifenacina.
Wolk e McArthur, 2020	Estudo populacional de coorte parado, retrospectivo	2010 a 2018	47.324 usuários de anticolinérgicos (a duração média da prescrição de anticolinérgicos foi de 30 dias) 23.662 usuários de mirabegron (a duração média da prescrição de mirabegron foi de 64 dias)	Pacientes com BH tratados com antimuscarínicos (oxibutina, tolterodina, solifenacina, darifenacina, fesoterodina, tiropró) ou mirabegron 36,3% de total de usuários de anticolinérgicos foram tratados com solifenacina	O grupo tratado com antimuscarínicos apresentou maior incidência de demência do que o tratado com mirabegron (aHR 1,23; IC 95% 1,12-1,35). Esse estudo não encontrou uma diferença significativa no risco de demência com base no tipo de droga anticolinérgica usado. Homens e aqueles ≤75 anos de idade em uso de anticolinérgicos tiveram o maior risco de demência devido ao uso de anticolinérgicos em comparação com aqueles usando mirabegron.

AChEs: Anticolinérgicos; Cognitive Burden score: aHR: razão de risco ajustada; aOR: razão de chances ajustada; BH: bexiga hiperativa; DDD: dose diária definida cumulativa; EULA: Estudos Unidos da América; IC: intervalo de confiança; TSDDs, total de doses diárias prescritas.

A polifarmácia e principalmente o uso de medicamentos potencialmente inapropriados tem sido comum em idosos (MORTAZAVI et al., 2016). Idosos são mais suscetíveis a reações adversas a medicamentos devido a alterações na farmacocinética e farmacodinâmica relacionadas à idade e à comorbidade de condições crônicas, como doenças cardiovasculares e distúrbios psicológicos (NECHBA et al., 2015; FULTON; ALLEN, 2005; JOHNNELL; KLARIN, 2007). Em um estudo com adultos com 65 anos ou mais, o mau estado de saúde foi associado ao uso de medicamentos potencialmente inapropriados em idosos (MILLER et al., 2017). O uso desses medicamentos potencialmente inapropriados às vezes é negligenciado mesmo em pacientes diagnosticados com demência. É o que demonstra um estudo longitudinal com adultos com 65 anos ou mais, recém-diagnosticados com demência, em que o uso desses medicamentos aumentou em 11% em relação ao ano de diagnóstico da demência (GNJIDIC et al., 2018).

O uso de antimuscarínicos para bexiga em pacientes já diagnosticados com demência tem gerado preocupação. Em uma revisão sistemática sobre o uso concomitante de inibidores da colinesterase e anticolinérgicos urinários, Triantafylidis e colaboradores analisaram os resultados cognitivos e funcionais e a prevalência da associação dessas drogas. A prevalência de terapia dupla variou de 1,2 a 40,5%, sendo encontrados resultados mistos para avaliação cognitiva e funcional com terapia dupla, sem alterações na cognição em 3 estudos avaliados e apenas um estudo mostrando melhora na cognição com altas doses de donepezil e solifenacina. Esses resultados mistos tornaram esta revisão sistemática inconclusiva (TRANTAFYLIDIS et al., 2018).

Evitando antimuscarínicos para bexiga

Agentes antimuscarínicos, como a solifenacina, são o tratamento farmacológico de primeira linha para BH. No entanto, a mirabegrona, um agonista beta-3, tornou-se recentemente um tratamento alternativo que pode prevenir os efeitos adversos no SNC dos antimuscarínicos da bexiga, os quais podem ser ainda mais significativos em pacientes que já usam outros anticolinérgicos, evitando assim o aumento da carga colinérgica total. A carga colinérgica total deve sempre ser avaliada em pacientes idosos poli medicados, pois é um forte preditor de prejuízos cognitivos e físicos nesses pacientes (CAI et al., 2013; CARRIÈRE et al., 2009; FICK et al., 2019; SALAHUDEEN; DUFFULL; NISHTALA, 2015).

A mirabegrona foi aprovada para uso clínico em 2015 e demonstrou eficácia e tolerabilidade no tratamento da BH. Em 2016, Warren e colegas publicaram uma revisão

analisando os dados disponíveis sobre a mirabegrona. Concluiu-se que o medicamento foi eficaz no controle dos sintomas e parâmetros da BH, como número de micções por 24 horas, frequência de episódios de incontinência e volume médio eliminado por micção após um tratamento de 4 semanas (WARREN; BURDEN; ABRAMS, 2016). Welk e McArthur conduziram um estudo de coorte retrospectivo com dados de 2010 a 2018 comparando a incidência de demência em pacientes com BH tratados com agentes antimuscarínicos ou mirabegrona. 47.324 usuários de antimuscarínicos e 23.662 usuários de mirabegrona foram incluídos neste estudo. Observou-se que o grupo tratado com antimuscarínicos apresentou maior incidência de demência em relação ao grupo tratado com mirabegrona (razão de risco de 1,23, IC 95% 1,12-1,35). Homens e aqueles com menos de 75 anos de idade tiveram maior incidência de demência induzida por antimuscarínicos em comparação com mirabegrona. Não houve diferença significativa entre as classes de antimuscarínicos utilizados (oxibutinina, tolterodina, solifenacina, darifenacina, fesoterodina, tróspio) e o grupo tratado com solifenacina teve a mesma propensão a desenvolver demência que os grupos tratados com outros antimuscarínicos (WELK; MCARTHUR, 2020).

Discussão

Caso os antimuscarínicos para bexiga tenham sido escolhidos como opção de tratamento, recomenda-se que uma avaliação periódica da cognição por meio da escala MMSE seja realizada em todos os pacientes em uso de antimuscarínicos com risco de comprometimento cognitivo, a fim de determinar se há piora na cognição (GORMLEY et al., 2012). Alterações de memória em pacientes idosos geralmente não são percebidas ou relatadas pelos próprios pacientes, o que torna essencial a reavaliação cognitiva de pacientes idosos em uso de antimuscarínicos (ARAKLITIS et al., 2017; GORMLEY et al., 2012; PAQUETTE; GOU; TANNENBAUM, 2011). Outra consideração importante é o uso de antimuscarínicos para bexiga em alguns pacientes idosos ou acamados com comprometimento cognitivo. Nestes pacientes, este tratamento pode não trazer vantagens em termos de qualidade de vida, pois alguns destes pacientes não têm consciência da perda urinária, o que não gera impacto social da incontinência urinária, geralmente não compensando o risco do uso destes medicamentos (PERK et al., 2016).

De acordo com os artigos descritos nesta revisão, pode-se observar que estudos clínicos que utilizaram a solifenacina por um curto período de até 4 meses não mostraram alterações na cognição ou aumento da incidência de demência, mostrando que o uso desta droga

por alguns meses (até 4 meses) é seguro, mesmo na população idosa em uso de altas doses diárias de solifenacina, como 20 a 30 mg por dia.

No entanto, estudos de base populacional avaliando o uso de anticolinérgicos ou antimuscarínicos para bexiga mostraram um aumento estatisticamente significativo na incidência de demência quando esses medicamentos foram usados por mais de 1 ano (TSDDs >365). A exposição mais curta a esses antimuscarínicos não mostrou o mesmo risco percebido de demência com o uso prolongado, exceto em pacientes diabéticos que usaram mais de 28 doses diárias cumulativas. Os efeitos do uso dessas drogas sobre a cognição, nos tratamentos com duração entre 4 meses e 1 ano permanecem inconclusivos.

Embora vários desses estudos de base populacional tenham incluído pacientes que usaram solifenacina, não temos conhecimento da existência de estudos de longo prazo específicos para solifenacina em relação a seus efeitos sobre a cognição ou risco de demência, o que limita a conclusão desta revisão sobre o risco relacionado ao uso prolongado dessa droga. Assim, até que estudos de longo prazo demonstrem a segurança da solifenacina, parece prudente evitar o uso prolongado dessa droga em pacientes idosos.

Conflitos de interesse

Os autores não têm conflitos de interesse a declarar.

Fontes de financiamento

Este estudo contou com o apoio do CNPq, da CAPES e da Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP).

5.2 Capítulo II

Protective effects of alpha-lipoic acid on memory deficit induced by long-term treatment with solifenacin in mice: the role of nitro-oxidative stress.

[Efeitos protetores do ácido alfa-lipóico no déficit de memória induzido pelo tratamento prolongado com solifenacina em camundongos: o papel do estresse nitro-oxidativo]

Manuscrito submetido para publicação no periódico *Metabolic Brain Disease*

Qualis CAPES A3

ARTIGO II

Efeitos protetores do ácido alfa-lipóico no déficit de memória induzido pelo tratamento prolongado com solifenacina em camundongos: o papel do estresse nitro-oxidativo

Leonardo Pimentel Dantas^{1,2}, Emanuel Carneiro de Vasconcelos¹, Carla da Silva Cunha¹, Pauliane Valeska Chagas Batista¹, Morgana Carla Souza Torres¹, Caren Nádia Soares de Sousa¹, Gabriel Angelo de Aquino¹, Manuel Alves dos Santos Junior¹, Pedro Henrique Freitas de Rezende¹, Wilson Silva de Vasconcelos¹, Manoel Cláudio Azevedo Patrocínio^{3,4}, Silvânia Maria Mendes Vasconcelos¹

¹Laboratório de Neuropsicofarmacologia, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvidimentos de Medicamentos, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

²Departamento de Urologia, Hospital Geral de Fortaleza, Fortaleza, CE, Brasil.

³Faculdade de Medicina, Centro Universitário Christus, Fortaleza, CE, Brasil.

⁴Departamento de Anestesiologia, Instituto Dr. Jose Frota, Fortaleza, CE, Brasil

Agradecimentos

Os autores agradecem às Instituições Brasileiras: Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil (FUNCAP), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil (CNPq) pelo apoio financeiro deste estudo.

Resumo

A solifenacina (Sol) é um dos antimuscarínicos mais utilizados para o tratamento da disfunção vesical e não há estudos conclusivos sobre seus efeitos no aprendizado e na memória após uso prolongado. Visto que substâncias com ação antioxidante, como o ácido alfa-lipóico (ALA), têm demonstrado ação neuroprotetora no déficit de memória e na doença de Alzheimer, decidimos estudar os efeitos da Sol isoladamente ou associada ao ALA em testes

comportamentais de memória e sua relação com estresse nitro-oxidativo em diferentes áreas do cérebro de camundongos Swiss fêmeas. Os camundongos do grupo controle receberam solução salina por 14 ou 28 dias. Os grupos tratados apenas com Sol, receberam doses diárias desse fármaco por 14 ou 28 dias. Os grupos tratados com ALA (3 grupos) receberam: a) solução salina por 14 dias + ALA do 15º ao 28º dia, b) Sol por 14 dias e Sol + ALA do 15º ao 28º dia ou c) Sol + ALA por 28 dias. Foram realizados testes comportamentais preditivos de déficit cognitivo e determinadas as alterações oxidativas (peroxidação lipídica), os níveis de nitrito e a atividade da acetilcolinesterase no córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC) e corpo estriado (CE). Também foram determinados os níveis de interleucina-1 β (IL-1 β) e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) no HC. Sol produziu alterações de memória nos camundongos, reduzindo o tempo de latência de descida no teste de esquiva passiva e o índice de reconhecimento no teste de reconhecimento de objetos. Sol também aumentou a peroxidação lipídica no CPF, HC e CE e os níveis de nitrito no HC. Por outro lado, o ALA associado à Sol foi capaz de reduzir os efeitos causados pela Sol isoladamente, tanto em relação aos parâmetros nitro-oxidativos quanto em relação aos testes comportamentais, também diminuindo a atividade da acetilcolinesterase no HC. Não houve alteração nos níveis de IL-1 β e TNF- α no HC. Em conjunto, esses resultados sugerem que as alterações comportamentais induzidas pela Sol envolvem mecanismos nitro-oxidativos e que o ALA mostra-se promissor como fármaco adjuvante em pacientes que necessitam de uso prolongado de Sol para mitigar esses efeitos adversos no sistema nervoso central. No entanto, estudos clínicos precisam ser realizados para corroborar a pesquisa pré-clínica.

Palavras-chave: Solifenacina, Demência, Antimuscarínicos, Memória, Estresse nitro-oxidativo

Introdução

Substâncias anticolinérgicas são utilizadas para o tratamento de diversas condições clínicas. As classes de fármacos com propriedades anticolinérgicas mais utilizadas são: antimuscarínicos para disfunções miccionais, antidepressivos tricíclicos e anti-histamínicos de primeira geração (DANTAS et al., 2022; DMOCHOWSKI et al., 2021). No entanto, o uso prolongado dessas substâncias pode causar efeitos colaterais que incluem efeitos gastrointestinais, oculares, urinários, neurológicos e cardiovasculares (KESSLER et al., 2011).

Como o sistema colinérgico desempenha um papel importante nos processos de aprendizagem e memória, principalmente por meio da regulação do hipocampo, drogas que bloqueiam a acetilcolina nessa região podem interferir nesses processos e, consequentemente, induzir um risco de demência (HAAM; YAKEL, 2017; ORTA-SALAZAR et al., 2014). Estudos indicam que o uso de vários tipos de drogas anticolinérgicas está associado a um risco aumentado de demência, principalmente em pacientes idosos que usam essas drogas por um longo período (COUPLAND et al., 2019; DECALF et al., 2017; RICHARDSON et al., 2018).

A solifenacina, aprovada para uso clínico em 2005, é um dos agentes antimuscarínicos mais amplamente utilizados para o tratamento da disfunção da bexiga (MILSOM et al., 2019; YEOWELL et al., 2018) principalmente devido à sua ação seletiva nos receptores muscarínicos periféricos M3. No entanto, estudos pré-clínicos mostram que a solifenacina também pode atuar nos receptores muscarínicos M1 do cérebro. Vale ressaltar que a redução ou bloqueio desses receptores M1 em algumas áreas do cérebro, como o hipocampo, está relacionada à doença de Alzheimer (PURI et al., 2015; YI et al., 2020). Estudos de curto prazo com solifenacina mostraram que ela é segura para a cognição. Entretanto, não existem estudos randomizados de longo prazo que comprovem a segurança dessa droga para o sistema nervoso central (DANTAS et al., 2022).

A fisiopatologia de doenças relacionadas à demência, como a doença de Alzheimer, envolve perda ou alteração de neurônios colinérgicos e seus receptores em várias regiões do cérebro, como o hipocampo (JAROUDI et al., 2017), córtex pré-frontal (XU et al., 2019) e corpo estriado (DE JONG et al., 2011). Esse distúrbio neurodegenerativo progressivo também está associado à perda sináptica de outros neurônios cerebrais e à deposição extraneuronal de proteína amiloide- β , constituindo placas senis, e à presença de agregados intraneuronais da proteína tau, formando emaranhados neurofibrilares, possivelmente devido ao envolvimento de processos neuroinflamatórios (MANDREKAR; LANDRETH, 2010) e estresse nitro-oxidativo que podem contribuir para a progressão da doença (ILL-RAGA et al., 2010).

Estudos recentes têm demonstrado que drogas com ação anti-inflamatória (OZBEN; OZBEN, 2019) e antioxidante (KRYSCIO et al., 2017) retardam o aparecimento e a progressão da demência.

O ácido alfa-lipóico (ácido 1,2-ditiolano-3-pentanóico) é um antioxidante natural sintetizado no corpo humano. Estudos pré-clínicos têm descrito os efeitos do ácido alfa-lipóico (ALA) no sistema nervoso central (SNC), como atividade anti-inflamatória desse composto e prevenção de danos neuronais causados pelo desequilíbrio de espécies reativas de

oxigênio (ERO), uma alteração fisiopatológica observada em doenças neurodegenerativas (DE ARAÚJO et al., 2011; SILVA et al., 2013). O efeito anti-inflamatório do ALA está relacionado à inibição do fator nuclear- κ B (NF- κ B), uma família de fatores de transcrição responsáveis pela expressão de vários genes relacionados à inflamação, regulação da quantidade de ERO na célula e apoptose (GORAÇA et al., 2011; SUZUKI; AGGARWAL; PACKER, 1992). Além disso, estudos em animais mostram que o ALA pode aumentar os níveis de acetilcolina no hipocampo aumentando sua liberação pelos neurônios, ativando a colina-acetiltransferase e diminuindo a atividade da acetilcolinesterase, além de diminuir a apoptose nos neurônios (DE SOUSA et al., 2018; MACZUREK et al., 2008; ZHAO et al., 2015).

Como não foram encontrados estudos pré-clínicos demonstrando a ação da solifenacina em testes comportamentais de memória e sua relação com o estresse nitro-oxidativo cerebral, optou-se por investigar: a) os efeitos da administração prolongada de solifenacina em testes comportamentais de avaliação da memória e o estresse nitro-oxidativo em diferentes áreas do cérebro e b) se o ALA, um poderoso antioxidante, tem algum efeito quando administrado em associação com a solifenacina nesses ensaios.

Material e métodos

Animais

Camundongos Swiss fêmeas (28-32 g) foram obtidos do biotério da Universidade Federal do Ceará, Brasil. Optou-se pelo estudo em fêmeas pela maior incidência de demência em pacientes do sexo feminino (ASSOCIATION, 2019), tendo também a população feminina maior incidência de bexiga hiperativa (ABRAMS et al., 2002; GORMLEY et al., 2012; HAYLEN et al., 2010; VOURI et al., 2018), levando à maior utilização de antimuscarínicos para disfunção miccional. Os animais foram mantidos em gaiolas de acrílico em uma sala com temperatura controlada de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, sob um ciclo claro-escuro padrão com acesso *ad libitum* à comida e água. Os animais foram divididos em 8 grupos experimentais ($n = 5-20$ animais/grupo) conforme descrito na Figura 1. Os experimentos foram realizados de acordo com o Guia dos Institutos Nacionais de Saúde para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório (NIH 1996). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (número de protocolo 9864280219).

Substâncias de estudo

Solifenacina (Vesicare®, Astellas Farma Brasil) foi dissolvida em solução salina. A solifenacina 1 ou 2 mg/kg foi administrada em dose única diária (por gavagem, via oral), entre 9h e 11h30, por 14 ou 28 dias consecutivos. A via de administração da solifenacina foi selecionada com base em estudos anteriores; as doses de solifenacina foram calculadas em mg/m² a partir das doses de 5 e 10 mg/dia usadas em humanos, respectivamente (OKUTSU et al., 2007; REAGAN-SHAW; NIHAL; AHMAD, 2007; WEST et al., 123DC). ALA (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) foi dissolvido em água destilada e 0,2% de carboximetilcelulose e administrado por via oral (VO) por 14 ou 28 dias consecutivos em doses de 200 mg/kg de acordo com estudos anteriores (Silva et al. 2013, 2016; de Sousa et al. 2015).

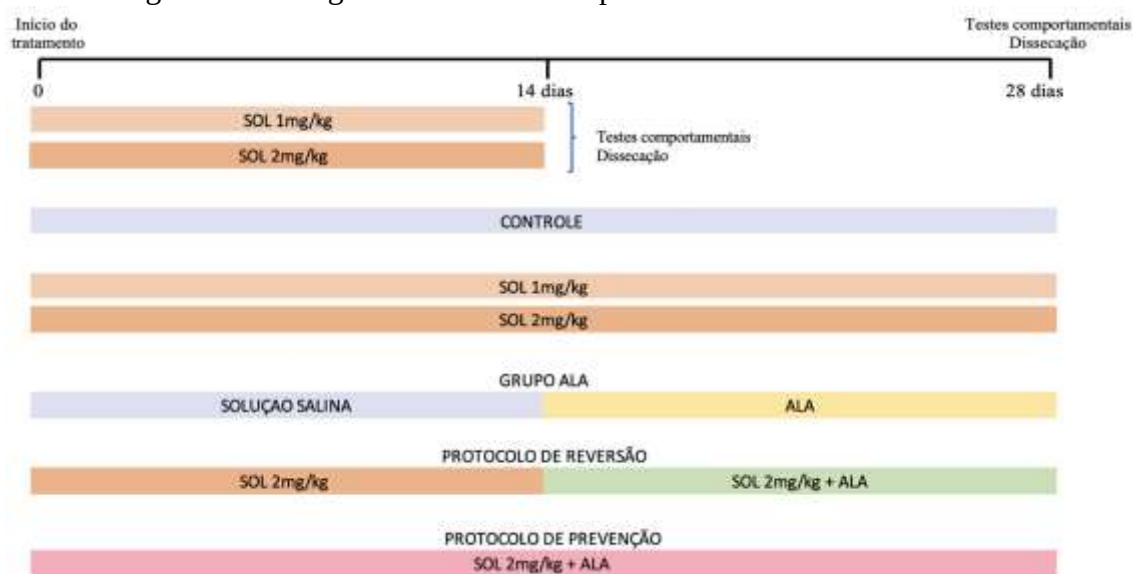
Grupos de tratamento

Os animais foram divididos aleatoriamente em 8 grupos e cada grupo foi alocado em uma caixa diferente. Vale ressaltar que um grupo de animais foi tratado com solução salina por 14 dias e o outro por 28 dias. Como os resultados comportamentais não foram diferentes entre esses dois grupos (dados não mostrados), o grupo controle utilizado nos experimentos foi apenas o grupo de 28 dias. Os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais (Figura 1):

- a) Grupo controle: os camundongos deste grupo receberam solução salina diária (VO) uma vez ao dia, entre 9h e 11h30, durante 28 dias;
- b) Grupos solifenacina: camundongos receberam diariamente solifenacina 1 mg/kg (Sol 1) ou 2 mg/kg (Sol 2), VO, uma vez ao dia, entre 9h e 11h30, por 14 ou 28 dias;
- c) Grupo ALA (ALA 14d): os camundongos deste grupo receberam administração repetida de solução salina uma vez ao dia, entre 9h e 11h30, durante 14 dias. Do 15º ao 28º dia, 30 minutos após a administração da solução salina, os camundongos receberam ALA (200 mg/kg, VO).
- d) Protocolo de reversão (Sol 2 + ALA 14d): os camundongos deste grupo receberam administração repetida de solifenacina (2 mg/kg, VO) por 14 dias. Do 15º ao 28º dias, 30 minutos após a administração da solifenacina, os camundongos receberam ALA (200 mg/kg, VO).
- e) Protocolo de prevenção (Sol 2 + ALA 28d): os camundongos deste grupo receberam administração repetida de solifenacina (2 mg/kg, VO) e, após 30 minutos, receberam ALA (200 mg/kg, VO), por 28 dias.

No último dia de tratamento uma hora após a administração dos fármacos os animais foram submetidos ao teste de campo aberto (TCA), teste de esQUIVA passiva, teste de reconhecimento de objetos e teste do labirinto em Y. Imediatamente após os testes comportamentais, os animais foram sacrificados e as áreas cerebrais (CPF, HC, CE) dissecadas para testes de estresse nitro-oxidativo e dosagem de acetilcolinesterase, além da determinação dos níveis de fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e interleucina-1 β (IL-1 β) no HC (DE SOUSA et al., 2018).

Figura 1 - Fluxograma do desenho experimental



Fonte: elaborado pelo autor.

Avaliação comportamental

Teste de campo aberto

A área para realização do teste de campo aberto consiste numa caixa de acrílico (paredes transparentes e piso preto, medindo 30×30×15cm) e dividida em nove quadrados de igual área. O TCA foi utilizado para avaliar a atividade exploratória do camundongo (ARCHER, 1973). Cada camundongo foi colocado no centro da área e o número de quadrados cruzados com todas as quatro patas (ou seja, atividade locomotora) durante um período de 5 minutos foi registrado. Os parâmetros observados incluíram os seguintes: número de quadrados

cruzados (travessias), número de eventos de autolimpeza (*grooming*) e número de eventos de elevação (*rearing*).

Teste de esquiva passiva

O teste esquiva passiva foi realizado com o objetivo de avaliar o parâmetro memória (DENOBLE et al., 1986; GOLD, 1986). O aparato consiste em uma caixa (31×27×24cm) com três paredes de madeira e uma parede frontal de acrílico. O piso consiste em uma série de barras paralelas de aço inoxidável, espaçadas 0,8cm entre si e conectadas a um gerador. O treinamento foi realizado em duas sessões semelhantes. Primeiro, cada camundongo foi colocado na plataforma de segurança e a quantidade de tempo para o animal descer da grade foi registrada (tempo de latência de descida). Em seguida, foi aplicado um choque de 0,5mA e o animal foi retirado do aparelho. A segunda sessão foi realizada 90 minutos após o primeiro teste. Para a avaliação da memória de curto prazo, os animais foram submetidos à sessão teste (segunda sessão) 90 min após a sessão de treinamento, com tempo de corte superior de 300s.

Teste de reconhecimento de objetos

Este teste é amplamente utilizado para avaliar a capacidade de memorizar e reconhecer objetos novos e objetos já conhecidos. No primeiro dia, antes de qualquer procedimento, considerado o dia de habituação, o animal foi colocado no centro do aparato e deixado por 5 min sem nenhum objeto. Após 24h, na sessão de treinamento, o animal foi recolocado na caixa com dois objetos idênticos (A1 e A2) colocados no meio da caixa e deixado por 5 min para explorar o novo ambiente. O tempo gasto explorando cada objeto foi registrado para posterior análise usando a taxa de reconhecimento. No mesmo dia, 1,5h após a sessão de treinamento, os camundongos foram testados para memória de curto prazo. Nesse procedimento, o animal era recolocado na caixa, com dois objetos semelhantes (A1 e B1) em cor e tamanho, mas com formatos diferentes. Novamente, os animais exploraram o objeto por 5 min e o tempo de exploração foi registrado. Para análise dos resultados, utilizamos o índice de reconhecimento, que é calculado da seguinte forma: $TB1 - TA1 / TE$, onde TB1 é o tempo gasto pelo animal explorando o novo objeto, TA1 é o tempo gasto explorando o objeto familiar e TE é o tempo total de operação, que é a soma do tempo de exploração do animal no objeto antigo e no novo (FURINI et al., 2010).

Teste do labirinto em Y

Com o intuito de avaliar o comportamento exploratório cognitivo dos animais, foi utilizado o teste do labirinto em Y. Cada camundongo foi liberado a se mover livremente pelo labirinto em Y por 8 min. A série de entradas pelos braços do labirinto foi registrada visualmente. Uma alternância foi definida como entradas em todos os três braços em ocasiões consecutivas. A porcentagem de alternância foi calculada como total de alternâncias / (total de entradas nos braços - 2) (DALL'IGNA et al., 2007).

Estresse nitro-oxidativo

Para o estresse nitro-oxidativo, as áreas cerebrais CPF, HC e CE foram homogeneizadas em dez volumes (1:10 p/v) de tampão fosfato de sódio 20 mM, pH 7,4, contendo KCl 140 mM em um homogeneizador de vidro Teflon e centrifugado a $750 \times g$ por 10 minutos a 4°C. Por fim, o sobrenadante foi separado e imediatamente utilizado para avaliar a quantificação dos níveis de nitrito e malondialdeído.

Determinação de malondialdeído (MDA)

A taxa de lipoperoxidação foi estimada utilizando-se o teste de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). As áreas cerebrais foram homogeneizadas a 10% de tecido com tampão monobásico de fosfato de potássio 50mM pH 7,4. Em seguida, 63µL do homogeneizado foram misturados com 100µL de ácido perclórico a 35%. As amostras foram centrifugadas (5000 rpm/10 min), os sobrenadantes foram removidos, misturados com ácido tiobarbitúrico 1,2% e, em seguida, aquecidos em banho-maria por 30 min. Após o resfriamento, a peroxidação lipídica foi determinada usando um leitor de microplacas ajustado para 535nm e expresso como mcg MDA/g de tecido úmido (DRAPER; HADLEY, 1990).

Determinação de nitrito

A produção de óxido nítrico foi determinada com base na reação de Griess, descrita por Green et al. (1981). Áreas cerebrais homogeneizadas de camundongos (10% p/v) foram preparadas em solução de cloreto de potássio (KCl) a 1,15%. Após a centrifugação, os sobrenadantes foram coletados e incubados com 100 µL de reagente de Griess em temperatura

ambiente por 10 min. A absorbância foi medida a 546nm usando um leitor de microplacas. A quantidade de nitrito foi calculada a partir de uma curva padrão de NaNO_2 e foi expressa em nMol nitrito/g de tecido úmido (GREEN; TANNENBAUM; GOLDMAN, 1981).

Determinação da atividade da enzima acetilcolinesterase

A atividade da acetilcolinesterase foi determinada medindo-se a taxa de produção de tiocolina, através da hidrólise da acetiltiocolina, a qual é usada como substrato. A atividade específica foi expressa em nmol de acetiltiocolina hidrolisada por miligrama de proteína por minuto (nmol/mg proteína/min). Os tecidos foram homogeneizados em tampão fosfato a 10% e 5 L do homogeneizado foram adicionados a uma placa contendo 500 μL de tampão, 895 μL de água destilada e 50 μL de ditiobisnitrobenzóico (ELLMAN et al., 1961). Depois que a absorbância é deixada em zero, a mistura é removida do espectrofotômetro, sendo adicionados 50 mL de iodeto de acetiltiocolina. A absorbância é registrada por 3 minutos em um comprimento de onda de 412 nm, sendo a atividade enzimática calculada como mudanças na absorbância de 3 a 0 min sobre o teor de proteína contida no homogeneizado (LOWRY et al., 1951).

Determinação dos níveis de IL-1 β e TNF- α

As áreas cerebrais dissecadas (CPF, HC, CE) foram homogeneizadas em 8 volumes de tampão PBS com inibidor de protease (Sigma-Aldrich), sendo posteriormente centrifugadas (14.000 rcf, 30 min). O sobrenadante foi utilizado sem diluição e a concentração das citocinas, em 100 μL de amostras, foi determinada por ELISA (BioLegend San Diego, CA, EUA) de acordo com o protocolo do fabricante e expressa em pg/g de tecido.

Análise estatística

Os resultados foram analisados usando o software GraphPad Prism 8.0.1 (San Diego, CA, EUA). O teste de Shapiro-Wilk foi realizado para verificar a distribuição normal dos dados. Para todas as análises, o nível de significância foi estabelecido em $\alpha=0,05$. Os resultados paramétricos foram analisados usando ANOVA de uma via seguido pelo teste de Tukey e os não paramétricos (apenas teste de reconhecimento de objetos novos) foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn's como um teste post hoc.

Os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (SEM), e as diferenças foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$

Resultados

Resultados da avaliação comportamental

Nenhum efeito foi observado no número de travessias [$F(4,37)= 1,614$; $P=0,1913$] ou *grooming* [$F(4,39)= 0,7190$; $0,5841$], quando os animais foram tratados com solifenacina (1 ou 2 mg/kg, VO) por 14 ou 28 dias quando comparados ao grupo controle (Figuras 2A e 3A). Efeitos semelhantes foram observados, em ambos os testes, quando os animais receberam apenas ALA 14d (200 mg/kg) ou ALA associado à solifenacina (ALA 14d ou ALA 28d) [Campo aberto: $F(4,63)= 0,8892$, $P= 0,4757$ ou *grooming* [$F(4,65)= 0,4215$; $0,7926$] em comparação com os grupos controle e Sol 2, 28 dias (Figuras 2B e 3B).

Figura 2 - Teste de Campo aberto nos animais submetidos ao tratamento com Sol (1 ou 2 mg/kg) durante 14 ou 28 dias (A) ou associados ao ALA (B). As barras representam a média $\pm$ EPM do número de travessias ($n= 5-19$ animais/grupo). Análise estatística foi realizada através da ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Tukey. Abreviações: Sol 1 – solifenacina 1mg/kg; Sol 2 – solifenacina 2mg/kg; ALA – ácido alfa lipoico.

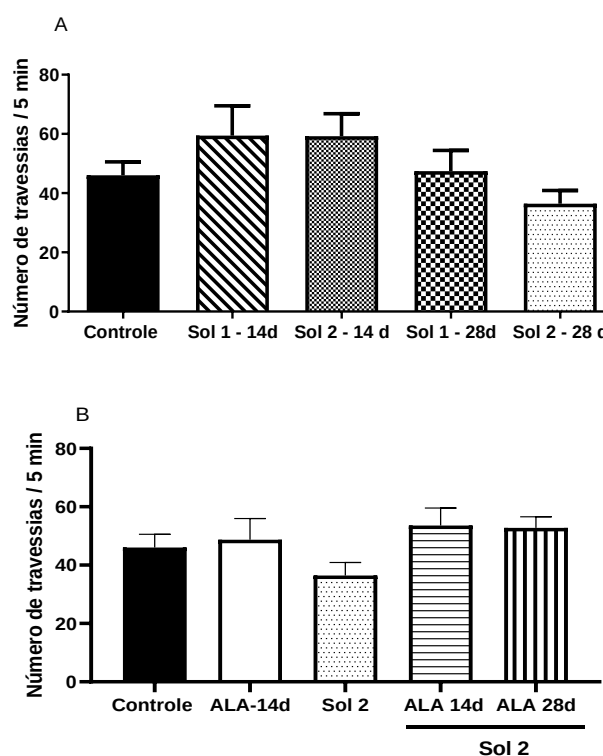
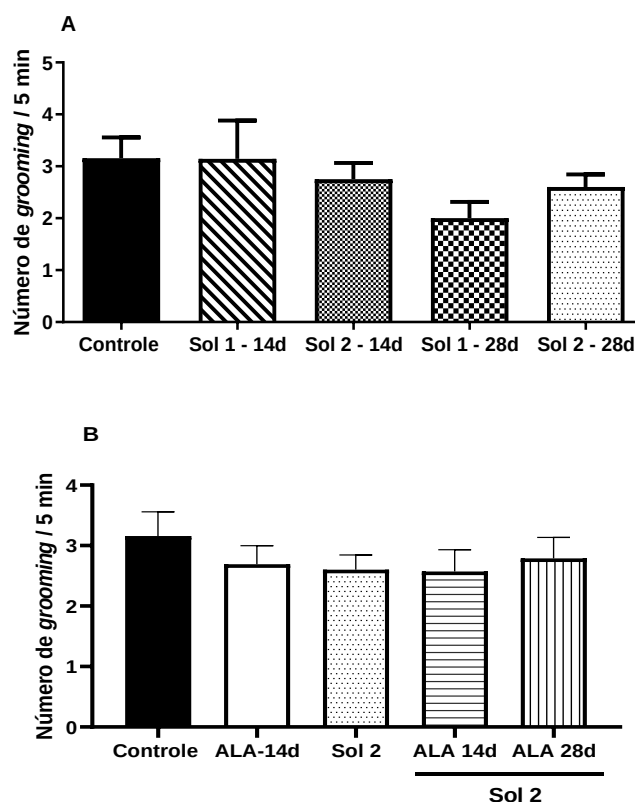


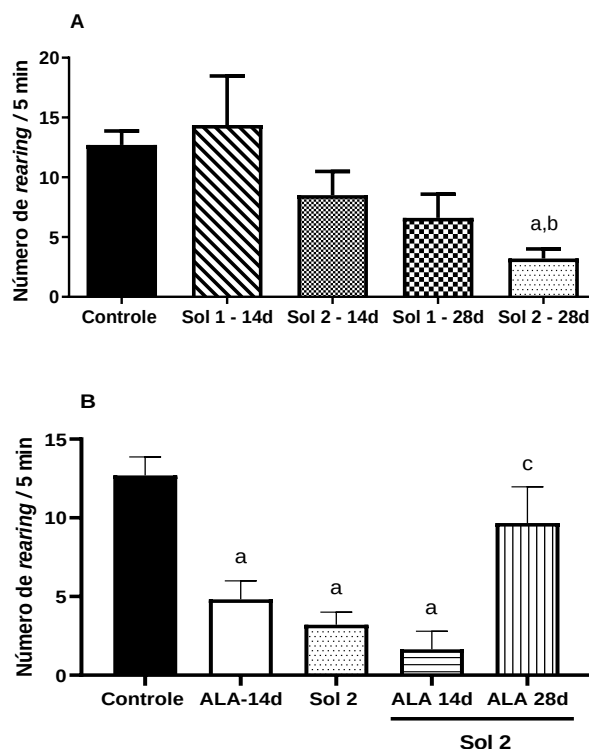
Figura 3 - Teste de *grooming* de animais submetidos ao tratamento com Sol (1 ou 2 mg/Kg) durante 14 ou 28 dias (A) ou associados ao ALA (B). As barras representam a média $\pm$ EPM do número de *grooming* ($n=5-20$ animais/grupo). Análise estatística foi realizada através da

ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Tukey. Abreviações: Sol 1 – solifenacina 1mg/kg; Sol 2 – solifenacina 2mg/kg; ALA – ácido alfa lipoico.



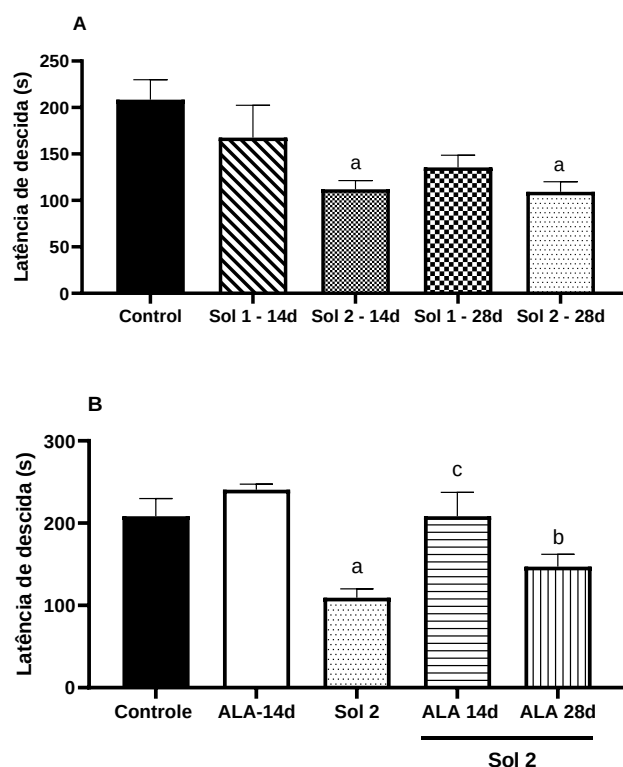
Em relação ao número de *rearing* (Figura 4A e 4B), o grupo de animais que recebeu solifenacina (2mg/kg) por 28 dias apresentou diminuição desse comportamento tanto em relação ao grupo controle (0,0463) quanto ao grupo solifenacina 1mg/kg, 14 dias (0,0371) [$F(4,41)= 3,408$; $P=0,0170$]. No entanto, essa diminuição no número de *rearing* [$F(4,69)= 8,951$; $P<0,0001$] também foi observado nos grupos de ALA (isolado) ou ALA associado à solifenacina por 14 dias (Sol 2 + ALA 14d). Vale ressaltar que a associação de ALA e solifenacina ao longo do tratamento (Sol 2 + ALA 28d) aumentou o comportamento de *rearing* em relação ao grupo que recebeu a associação com ALA apenas nos últimos 14 dias ($P=0,037$).

Figura 4 - Teste de *rearing* de animais submetidos ao tratamento com Sol (1 ou 2 mg/kg) durante 14 ou 28 dias (A) ou associados ao ALA (B). As barras representam a média $\pm$ EPM do número de *rearing* (n= 5–20 animais/grupo). **a:** $P < 0.05$ quando comparado ao controle; **b:** $P < 0.05$ quando comparado ao grupo Sol 1 - 14 d e **c:** $P < 0.05$ quando comparado ao grupo Sol 2+ALA 14d de acordo com ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Tukey. Abreviações: Sol 1 – solifenacina 1mg/kg; Sol 2 – solifenacina 2mg/kg; ALA – ácido alfa lipoico.



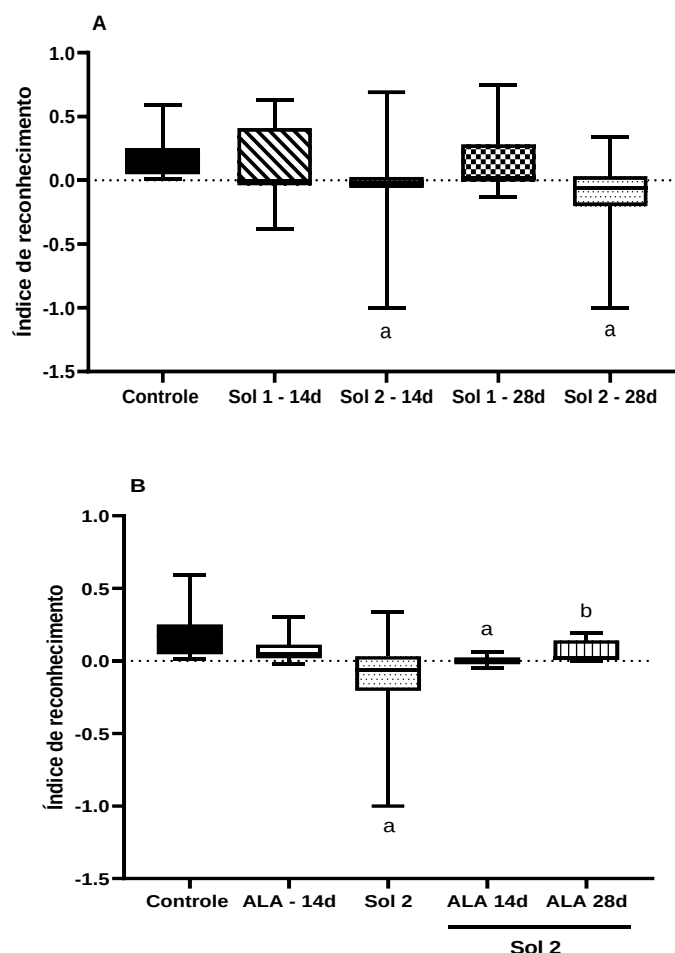
No teste de esquiwa passiva, observou-se redução da latência de descida nos dois grupos que receberam solifenacina 2 mg/kg (figura 5A), tanto com 14 quanto com 28 dias, quando comparados ao grupo controle [$F(4,19) = 3,968$; $P = 0,0166$]. No entanto, esse efeito foi revertido (Figura 5B) quando solifenacina (2 mg/kg, 28 dias) foi administrada em combinação com ALA por 14 dias [$F(4,24) = 6,218$; $P = 0,0014$]. Vale ressaltar que foi observada redução na latência de descida nos animais que receberam Sol 2 + ALA 28d (0,0169) quando comparado apenas ao grupo de animais tratados com ALA.

Figura 5 - Teste de esquiwa passiva de animais submetidos ao tratamento com Sol (1 ou 2 mg/kg) durante 14 ou 28 dias (A) ou associados ao ALA (B). As barras representam a média $\pm$ EPM do número de descidas ($n= 5-11$ animais/grupo). **a:** $P < 0.05$ quando comparado ao controle; **b:** $P < 0.05$ quando comparado ao grupo ALA 14d e **c:** $P < 0.05$ quando comparado ao grupo Sol 2 de acordo com ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Tukey. Abreviações: Sol 1 – solifenacina 1mg/kg; Sol 2 – solifenacina 2mg/kg; ALA – ácido alfa lipoico.



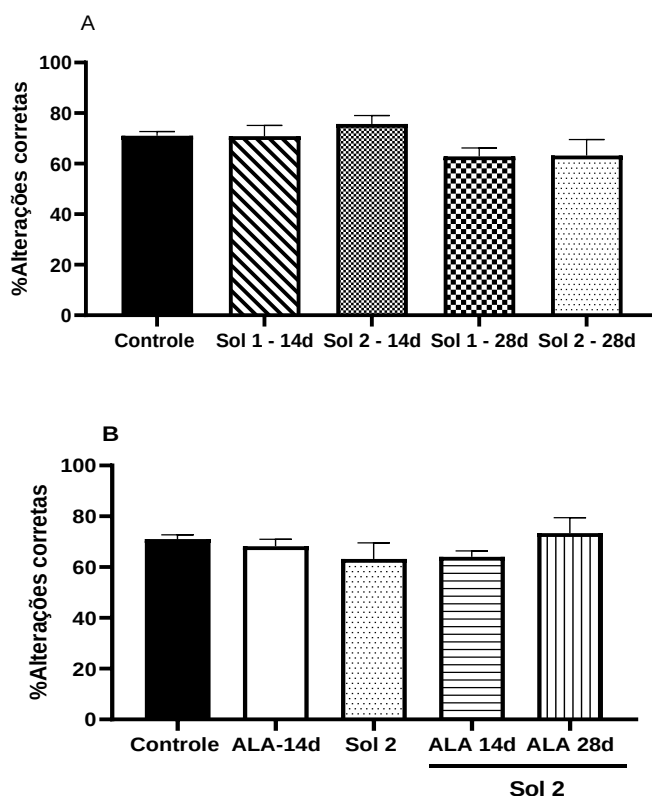
No outro teste de memória estudado, o teste de reconhecimento de objetos (Figura 6A e 6B), observou-se que apenas a solifenacina na dose mais alta (2 mg/kg - 14 ou 28 dias) apresentou uma redução no índice de reconhecimento de objetos quando comparado ao grupo controle [$F(5,74) = 219,17$; $P = 0,0007$]. Esse efeito foi reduzido apenas quando o ALA foi associado à solifenacina por 28 dias no protocolo de prevenção [$F(5,100) = 36,80$; $P < 0,0001$].

Figura 6 - Teste de reconhecimento de objetos de animais submetidos ao tratamento com Sol (1 ou 2 mg/kg) durante 14 ou 28 dias (A) ou associados ao ALA (B). As barras representam a mediana (Min-Max) do índice de reconhecimento ($n = 10\text{--}27$ animais/grupo). **a**: $P < 0.05$ quando comparado ao controle; **b**: $P < 0.05$ quando comparado ao grupo Sol 2 de acordo com o Teste de Kruskal-Wallis e *post hoc* de Dunn. Abreviações: Sol 1 – solifenacina 1mg/kg; Sol 2 – solifenacina 2mg/kg; ALA – ácido alfa lipoico.



Em relação ao teste do labirinto em Y, (Figura 7A e 7B) não foi observada diferença em relação ao grupo controle, tanto nos protocolos de solifenacina isolada [$F(4,24) = 1,534$; $P = 0,2241$] quanto nos protocolos associados ao ALA [$F(4,57) = 0,8130$; $P = 0,5221$].

Figura 7 - Teste de labirinto em Y de animais submetidos ao tratamento com Sol (1 ou 2 mg/kg) durante 14 ou 28 dias (A) ou associados ao ALA (B). As barras representam a média $\pm$ EPM da porcentagem (%) de alterações corretas ($n = 5-19$ animais/grupo). Análise estatística foi realizada através da ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Tukey. Abreviações: Sol 1 – solifenacina 1mg/kg; Sol 2 – solifenacina 2mg/kg; ALA – ácido alfa lipoico.



Resultados da avaliação de estresse nitro-oxidativo

Com relação aos resultados de estresse oxidativo e nitrosativo, foi observada peroxidação lipídica aumentada no CPF (Figura 8A) em todas as doses (1 ou 2mg/kg) e tempos de tratamento (14 ou 28 dias) com solifenacina quando comparado ao grupo controle [$F(4,33) = 17,75$; $P < 0,0001$]. No entanto, esse efeito foi bloqueado pela associação com ALA (Figura 8B) nos protocolos 14 dias ($P < 0,0001$) e 28 dias ($P < 0,0001$) [$F(4,32) = 11,2$; $P < 0,0001$]. Vale ressaltar que a administração de ALA isoladamente (Figura 8B) reduziu os níveis de MDA tanto em relação ao grupo controle ($P = 0,0006$) quanto em relação aos grupos associados à solifenacina [Sol 2+ ALA 14d ($P < 0,0001$); Sol 2 + ALA 28d ($P = 0,0500$)]. Um aumento nos níveis de TBARS também foi observado no HC (Figura 9A) e CE (Figura 10A) somente após o tratamento com solifenacina (1 ou 2 mg/kg) por 28 dias em comparação com os grupos controle e solifenacina 14 dias [HC: $F(4,33) = 19,52$; $P < 0,0001$ ou CE: $F(4,32) = 17,29$; $P < 0,0001$]. Este efeito também foi bloqueado (Figura 9B e 10B) pela associação de solifenacina

com ALA (ALA 14d ou ALA 28d) quando comparado aos grupos controle e Sol 2 [HC: $F(4,33) = 19,52$; $P < 0,0001$ ou CE: $F(4,32) = 17,29$; $P < 0,0001$]. A administração de ALA sozinho, no HC (Figura 8B) e CE (Figura 9B), produziu uma redução nos níveis de MDA quando comparado ao grupo controle (HC: $P < 0,0001$; CE: $P < 0,0001$) e aos grupos associando a solifenacina ao ALA.

Figura 8 - Efeitos do tratamento com solifenacina (por 14 ou 28 dias, 1 ou 2 mg/kg, VO) isoladamente (A) ou associada (B) ao ALA (por 14 ou 28 dias, 200 mg/kg, VO) nos níveis de TBARS (peroxidação lipídica) no CPF. As barras representam a média $\pm$ EPM ($n = 6-10$ animais/grupo). a: $P < 0,05$ em relação ao grupo controle; b: $P < 0,05$ em relação ao grupo ALA 14d; c: $P < 0,05$ em relação ao grupo Sol 2. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Abreviações: CPF – córtex pré-frontal; HC – hipocampo; CE – corpo estriado; Sol 1 – solifenacina 1mg/kg; Sol 2 – solifenacina 2mg/kg; ALA – ácido alfa-lipóico.

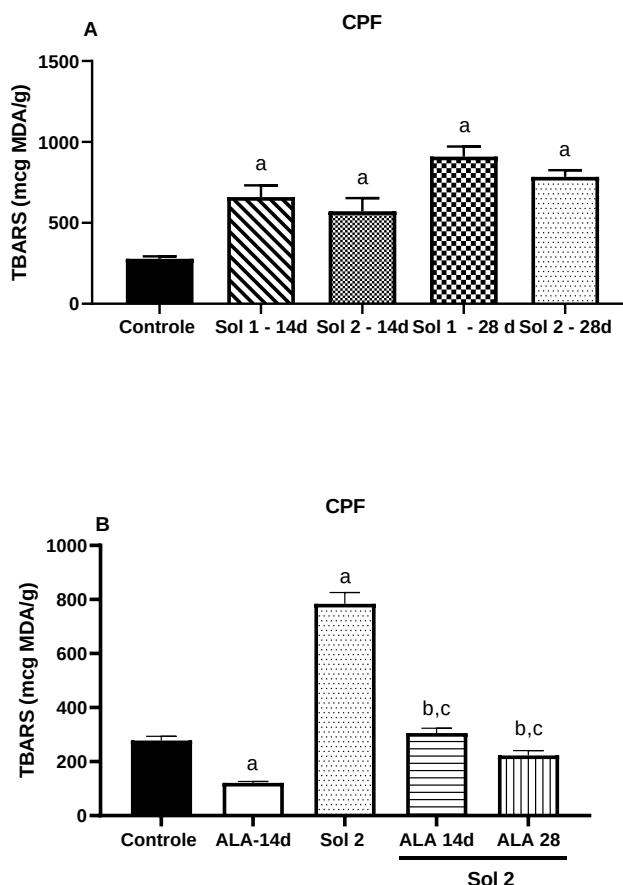


Figura 9 - Efeitos do tratamento com solifenacina (por 14 ou 28 dias, 1 ou 2 mg/kg, VO) isoladamente (A) ou associada (B) ao ALA (por 14 ou 28 dias, 200 mg/kg, VO) nos níveis de TBARS (peroxidação lipídica) no HC. As barras representam a média $\pm$ EPM (n = 6-10 animais/grupo). a: $P < 0,05$ em relação ao grupo controle; b: $P < 0,05$ em relação ao grupo Sol 1, 14 dias; c: $P < 0,05$ em relação ao grupo Sol 2; d: $P < 0,05$ em comparação com o grupo ALA 14d. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Abreviações: CPF – córtex pré-frontal; HC – hipocampo; CE – corpo estriado; Sol 1 – solifenacina 1mg/kg; Sol 2 – solifenacina 2mg/kg; ALA – ácido alfa-lipóico.

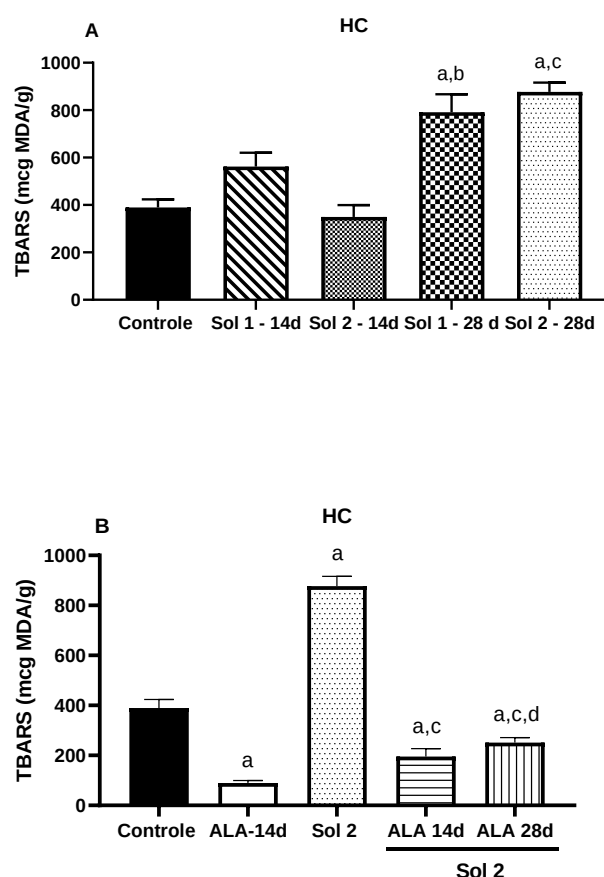
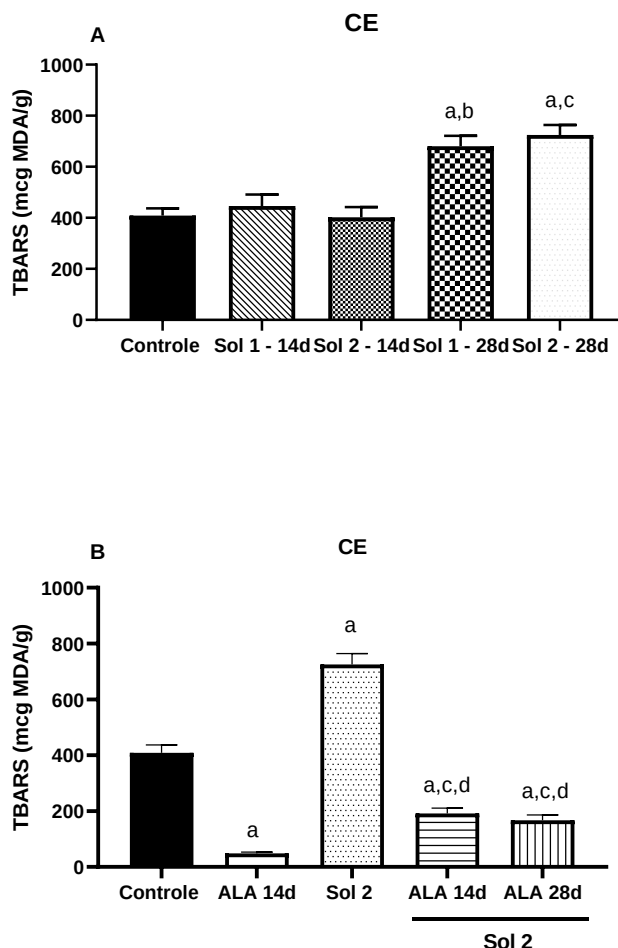


Figura 10 - Efeitos do tratamento com solifenacina (por 14 ou 28 dias, 1 ou 2 mg/kg, VO) isoladamente (A) ou associada (B) ao ALA (por 14 ou 28 dias, 200 mg/kg, VO) nos níveis de TBARS (peroxidação lipídica) no CE. As barras representam a média $\pm$ EPM (n = 6-10 animais/grupo). a: $P < 0,05$ em relação ao grupo controle; b: $P < 0,05$ em relação ao grupo Sol 1, 14 dias; c: $P < 0,05$ em relação ao grupo Sol 2; d: $P < 0,05$ em comparação com o grupo ALA 14d. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Tukey.



Em relação à dosagem de nitrito (figuras 11, 12 e 13), foi observado aumento de seus níveis apenas no HC (figura 11A e 11B) dos animais que receberam solifenacina 2mg/kg, por 28 dias, em relação ao grupo controle [HC: $F(4,37) = 7,346$; $P=0,0002$]. No entanto, nas 3 áreas cerebrais estudadas [CPF: $F(4,31)= 20,07$, $P<0,0001$; HC: $F(4,34)= 13,39$, $P<0,0001$ ou CE: $F(4,32)= 13,94$; $P<0,0001$] a associação de solifenacina com ALA (Sol 2 + ALA 14d e Sol 2 + ALA 28d) mostrou uma redução nos níveis de nitrito quando comparado ao grupo solifenacina (Figuras 11B, 12B e 13B). Vale ressaltar que a administração de ALA isoladamente diminuiu os níveis de nitrito no CPF ($P= 0,0120$) e CE ($P= 0,0002$) quando comparado ao grupo controle.

Figura 11 - Efeitos do tratamento com solifenacina (por 14 ou 28 dias, 1 ou 2 mg/kg, VO) isoladamente (A) ou associada (B) ao ALA (por 14 ou 28 dias, 200 mg/kg, VO) nos níveis de nitrito no CPF. As barras representam a média $\pm$ EPM ($n = 6-10$ animais/grupo). a: $P < 0,05$ em relação ao grupo controle; b: $P < 0,05$ em relação ao grupo Sol 2. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Abreviações: CPF – córtex pré-frontal; HC – hipocampo; CE – corpo estriado; Sol 1 – solifenacina 1mg/kg; Sol 2 – solifenacina 2mg/kg; ALA – ácido alfa-lipóico.

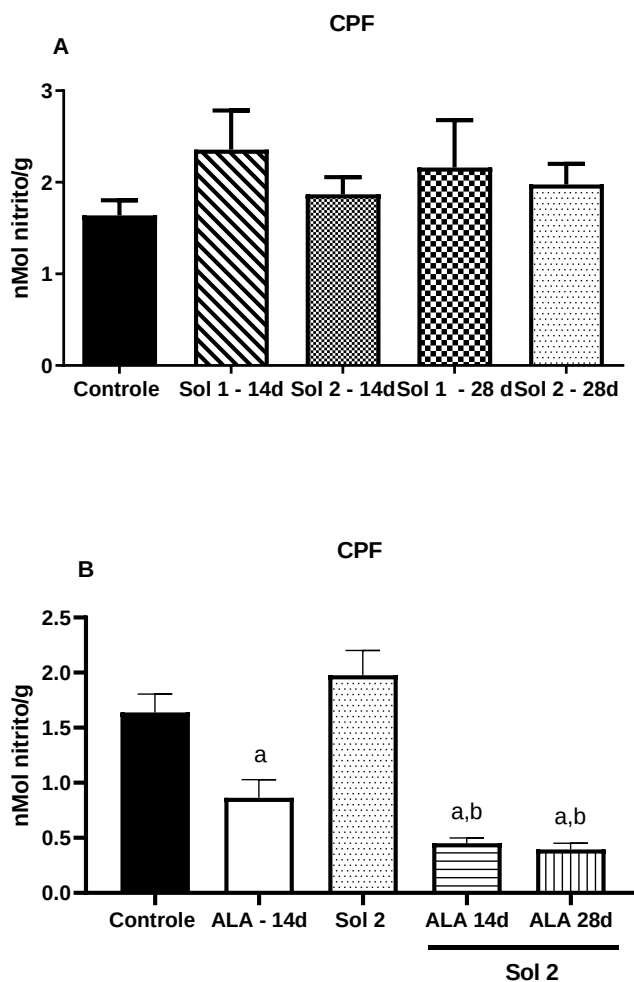


Figura 12 - Efeitos do tratamento com solifenacina (por 14 ou 28 dias, 1 ou 2 mg/kg, VO) isoladamente (A) ou associada (B) ao ALA (por 14 ou 28 dias, 200 mg/kg, VO) nos níveis de nitrito no HC. As barras representam a média $\pm$ EPM ($n = 6-10$ animais/grupo). a: $P < 0,05$ em relação ao grupo controle; b: $P < 0,05$ em relação ao grupo Sol 2. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Abreviações: CPF – córtex pré-frontal; HC – hipocampo; CE – corpo estriado; Sol 1 – solifenacina 1mg/kg; Sol 2 – solifenacina 2mg/kg; ALA – ácido alfa-lipóico.

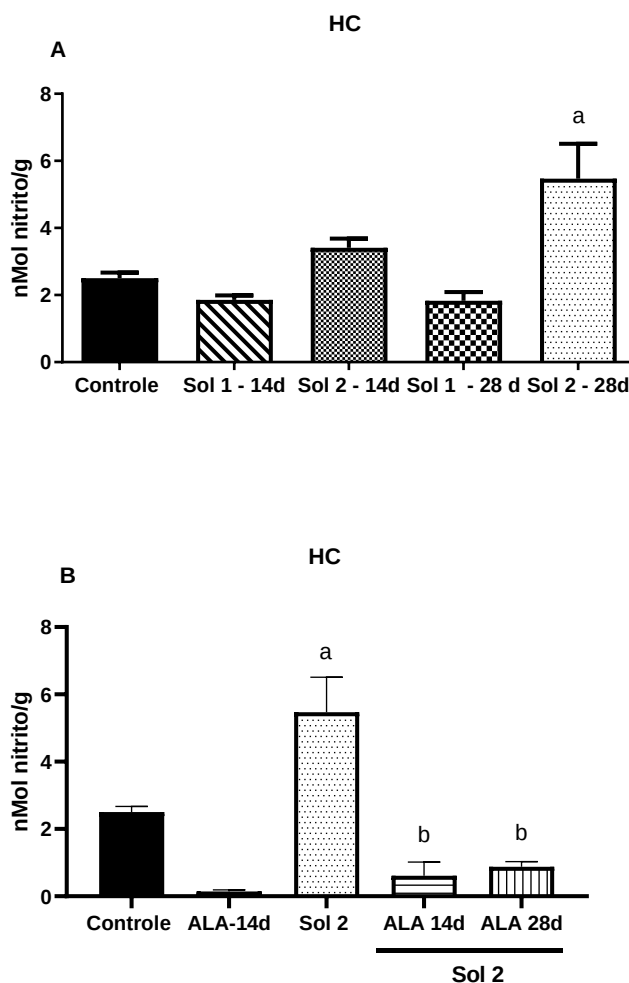
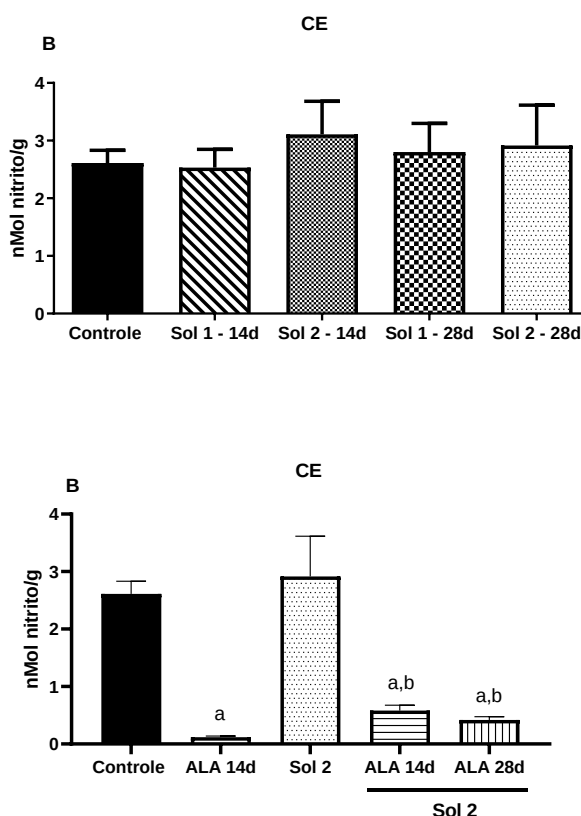


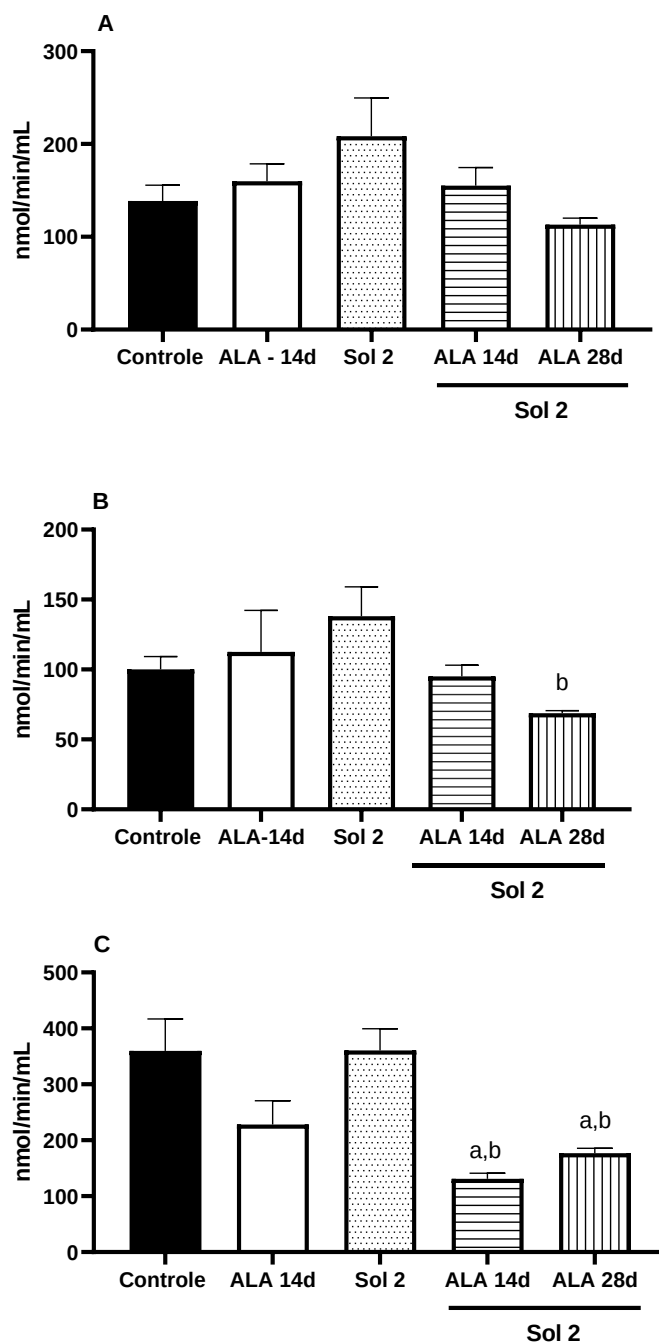
Figura 13 - Efeitos do tratamento com solifenacina (por 14 ou 28 dias, 1 ou 2 mg/kg, VO) isoladamente (A) ou associada (B) ao ALA (por 14 ou 28 dias, 200 mg/kg, VO) nos níveis de nitrito no CE. As barras representam a média $\pm$ EPM ($n = 6-10$ animais/grupo). a: $P < 0,05$ em relação ao grupo controle; b: $P < 0,05$ em relação ao grupo Sol 2. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Abreviações: CPF – córtex pré-frontal; HC – hipocampo; CE – corpo estriado; Sol 1 – solifenacina 1mg/kg; Sol 2 – solifenacina 2mg/kg; ALA – ácido alfa-lipóico.



Avaliação da atividade da acetilcolinesterase e dos níveis IL-1 β e TNF- α

Nenhuma alteração foi demonstrada pelos grupos estudados na atividade da enzima acetilcolinesterase no CPF (figura 14A) quando comparado ao grupo controle [$F(4,27) = 2,211$; $P = 0,0945$]. Contudo, uma redução da atividade da enzima no HC (figura 14B) foi observada no grupo da associação Sol 2 + ALA 28d (protocolo de prevenção) quando comparado ao grupo da solifenacina sozinha [$F(2,26) = 2,811$; $P = 0,0461$]. Adicionalmente, a associação de Sol + ALA (tanto no protocolo de prevenção quanto de reversão) apresentou uma redução da atividade da AChE no CE (figura 14C) quando comparado ao grupo Sol 2 [$F(4,21) = 8,1-3$; $P = 0,0004$].

Figura 14 - Efeitos da administração de solifenacina (28 dias, 2 mg/kg, VO) sozinha ou associada ao ALA (por 14 ou 28 dias, 200 mg/kg, VO) na atividade da enzima acetilcolinesterase no CPF (A), HC (B) e CE (C). As barras representam a média $\pm$ EPM ($n = 4-8$ animais/grupo). a: $P < 0,05$ em comparação ao grupo controle e b: $P < 0,05$ em comparação ao grupo Sol 2. Os dados foram analisados por one-way ANOVA seguido por teste post hoc de Tukey. Abreviaturas: CPF – córtex pré-frontal; HC – hipocampo; CE – corpo estriado; Sol 2 – solifenacina 2mg/kg; ALA – ácido alfa-lipóico.



Em relação as concentrações das citocinas, nenhum efeito foi observado nas concentrações de IL-1 β [$F(4,25) = 2,030$; $P = 0,1209$] e TNF α [$F(4,25) = 1,296$; $P = 0,2986$] no HC

quando comparado aos grupos controle (figuras 15A e 15B, respectivamente). A figura 16 apresenta um resumo dos principais resultados dos testes comportamentais e neuroquímicos.

Figura 15 - Efeitos da administração de solifenacina (28 dias, 2 mg/kg, VO) sozinha ou associada ao ALA (por 14 ou 28 dias, 200 mg/kg, VO) nas concentrações de IL-1 β (A) e TNF- α (B) no HC. As barras representam a média $\pm$ EPM (n = 5-10 animais/grupo). Os dados foram analisados por one-way ANOVA seguido por teste *post hoc* de Tukey. Abreviaturas: Sol 2 – solifenacina 2mg/kg; ALA – ácido alfa-lipóico; IL-1 β – interleucina 1 β ; TNF- α - fator de necrose tumoral- α .

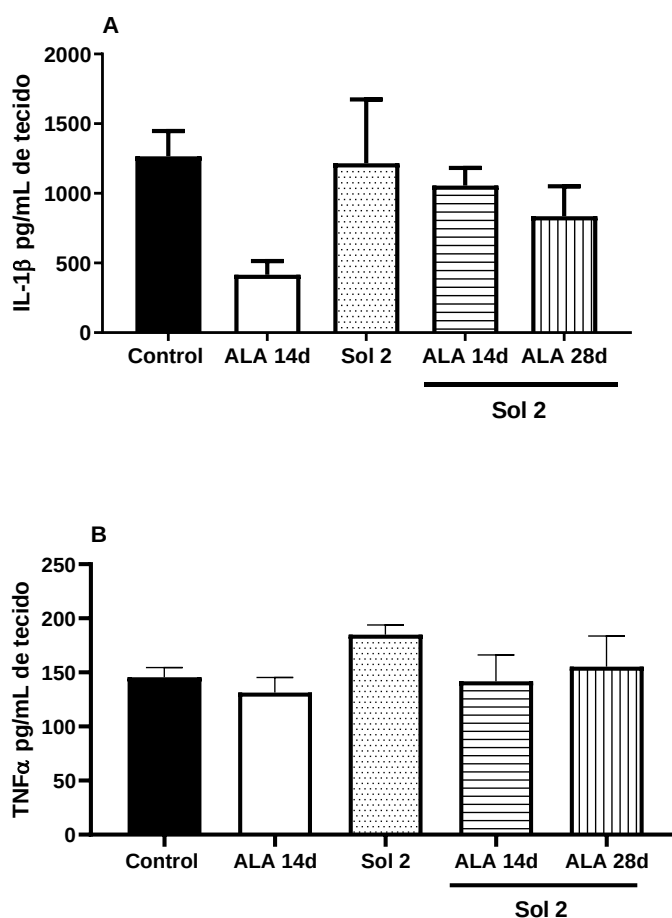


Figura 16 - Resumo dos resultados mostrando que à medida que se aumenta a dose de solifenacina (de 1 para 2mg/kg) e o período de tratamento com esse fármaco (de 14 para 28 dias), os efeitos sobre a memória de curto prazo (avaliados através dos testes de esQUIVA passiva e reconhecimento de objetos) e sobre o estresse nitro-oxidativo são mais evidentes, acometendo mais áreas cerebrais. Áreas cerebrais afetadas entre parênteses. Abreviaturas: AChE: acetilcolinesterase; CE: corpo estriado; CPF: córtex pré-frontal; IL-1 β : interleucina-1 β ; IRO: índice de reconhecimento de objetos; SA: sem alteração; Sol 14d: solifenacina por 14 dias; Sol 28d: solifenacina por 28 dias; TL: tempo de latência de descida; TNF- α : fator de necrose tumoral- α ; ↓: diminuição; ↑: aumento.

	Reconhecimento de objetos	EsQUIVA passiva	TBARS	Nitrito	AChE	IL-1 β TNF- α
Sol 14d	SA	↓ TL 2mg/kg	↑ (CPF) 1 ou 2mg/kg	SA	SA	SA
Sol 28d	↓ IRO 2mg/Kg	↓ TL 2mg/Kg	↑ (CPF/Hc/CE) 1 ou 2mg/kg	↑ (Hc) 2mg/kg	SA	SA
Protocolo de Prevenção	Normal	SA	↓ (CPF/Hc/CE)	↓ (CPF/Hc/CE)	↓ (Hc, CE)	SA
Protocolo de reversão	SA	Normal	↓ (CPF/Hc/CE)	↓ (CPF/Hc/CE)	↓ (CE)	SA

Discussão

No presente estudo, os resultados mais significativos nos testes comportamentais foram observados após a administração de solifenacina na dose mais elevada (2mg/kg) e durante o período de tratamento de 28 dias. Devido a estes efeitos, optou-se por este protocolo de administração para os grupos de associação ALA (denominados protocolos de reversão e prevenção).

O primeiro teste realizado foi o teste de campo aberto. Este teste foi desenvolvido por Hall (1934) e é uma medida de comportamento geral e atividade em roedores (HALL, 1934). O teste é comumente utilizado para avaliar os efeitos sedativos, tóxicos ou estimulantes de substâncias (GOULD; DAO; KOVACSICS, 2009). O resultado do presente estudo demonstrou que nos protocolos de tratamento com solifenacina isoladamente ou associada ao ALA, não houve alteração nos testes de campo aberto. Portanto, a ausência de alteração na atividade locomotora dos animais demonstra que este parâmetro não interferiu no desempenho dos animais nos demais testes comportamentais.

Efeito semelhante foi observado no comportamento de *grooming*, onde todos os grupos estudados se comportaram de forma semelhante ao grupo controle. A autolimpeza em animais é um comportamento inato que está envolvido na manutenção da higiene e outros

processos fisiologicamente importantes, incluindo termorregulação, comunicação social, excitação, prazer, motivação e autocuidado (KALUEFF et al., 2016; SPRUIJT; VAN HOOFF; GISPEN, 1992). Alguns autores relacionam a neurobiologia do comportamento de autolimpeza em humanos a condições estressantes ou certos distúrbios neuropsiquiátricos (AHMARI et al., 2013; KALUEFF et al., 2007).

Observou-se redução no número de *rearing* nos animais que receberam solifenacina na dose mais elevada e no tratamento mais longo. Este efeito não foi revertido pela associação com o ALA. Como o comportamento de *rearing* está relacionado a diversos parâmetros fisiológicos, como os níveis de excitabilidade do SNC (CUNHA; MASUR, 1978), poderíamos sugerir que a solifenacina, de forma dose-dependente, teria o efeito de diminuir essa função sem, no entanto, interferir na atividade locomotora do animal.

Estudos demonstraram que outras drogas anticolinérgicas, como a escopolamina, podem causar vários problemas de memória e dificuldades de aprendizagem (BLAKE et al., 2012; CAFFARO et al., 2012; DECKER; TRAN; MCGAUGH, 1990; OHNO; WATANABE, 1996; RUSH, 1988). Essas alterações podem ser devidas a uma deficiência de acetilcolina no hipocampo, que é uma região primordial do cérebro que controla a formação de memórias e comportamentos aprendidos (HAAM; YAKEL, 2017). Para avaliar se a solifenacina também tem algum efeito na memória e na aprendizagem, foram realizados três testes cognitivos: o teste de esQUIVA passiva, o teste de reconhecimento de objetos e o teste do labirinto em Y.

O primeiro teste realizado foi o teste de esQUIVA passiva, que avalia a memória emocional envolvida com a memória de alerta, ansiedade ou aversão associada a um evento (BRIONI, 1993; IZQUIERDO et al., 1993). Esse teste avalia aprendizado e memória recente, os quais estão muito relacionados com o HC (JÄNICKE; COPER, 1996). O HC é a região cerebral mais importante para o armazenamento e recuperação de memórias contextuais e episódicas (MORRIS et al., 1982; R.N.DEJ., 1951), sendo a amnésia anterógrada (déficit de memória recente) a alteração mais comum na DA, onde o HC se encontra bastante comprometido (MCKHANN et al., 2011). Camundongos tratados com solifenacina, na dose mais alta, e em ambos os tempos de administração (14 ou 28 dias) apresentaram déficit de aprendizagem e prejuízo na aquisição de memória recente quando comparados ao grupo controle. O ALA, apenas no protocolo de reversão, foi capaz de melhorar os déficits na aquisição da memória, com aumento significativo do tempo de latência de entrada no piso eletrificado 15 min após o choque (memória recente).

Com o objetivo de estabelecer um paradigma para o estudo de memórias declarativas em roedores, foi proposto um teste de memória de trabalho em reconhecimento de

objetos. Este teste baseia-se na observação de um comportamento exploratório inato destes animais. O reconhecimento de objetos torna-se uma ferramenta útil para estudar os processos neurais e comportamentais envolvidos na formação, evocação e consolidação da memória, sem interferir no comportamento natural do animal (ANTUNES; BIALA, 2012; LUEPTOW, 2017; ZHANG et al., 2012). Estudos com esse teste em roedores evidenciam que lesões cerebrais no HC e córtex causam diminuição no índice de reconhecimento de objetos, diferentemente das lesões no CE, que não causam alteração neste índice (RUAN e YAO, 2020). Nossos resultados demonstraram que apenas a administração de solifenacina na dose mais alta e no período mais longo de tratamento foi capaz de diminuir o índice de reconhecimento de objetos. No entanto, o tratamento associado ao ALA, no protocolo de prevenção, foi capaz de reverter as alterações neste tipo de memória.

Para avaliação da memória espacial e com o intuito de fornecer mais um parâmetro para avaliação da cognição, foi realizado o teste do labirinto em Y, não sendo observada alteração nesse teste com solifenacina isoladamente ou associada ao ALA. Esse teste, entretanto, é falho em detectar disfunções do HC, tendo em vista que disfunções desta área cerebral frequentemente levam à preferência de lateralidade que não seria detectada pelo labirinto em Y, mas sim numa variação desse teste chamada labirinto em T (GERLAI, 1998; SPOWART-MANNING e STAAY, 2004). Dessa forma, o fato de não ter sido encontrada alteração no labirinto em Y no grupo que utilizou solifenacina, não exclui a possibilidade de disfunção hipocampal, a qual foi compatível com os resultados observados nos testes de esquiva passiva e reconhecimento de objetos. Pode-se sugerir então, que a solifenacina causa dano à memória de forma seletiva (variando de acordo com o tipo de memória) e a ação do ALA na reversão desse dano pode variar de acordo com o tipo de memória afetada.

Uma vez que o desequilíbrio do nitro-oxidativo está ligado à fisiopatologia de doenças neurodegenerativas como o Alzheimer e pode afetar fortemente a formação de vários tipos de memória, decidimos investigar esses parâmetros em animais tratados com solifenacina isoladamente ou associada ao ALA em três áreas cerebrais, CPF, HC e CE, que estão relacionadas com a neurobiologia da memória (BECHARA et al., 1995; IZQUIERDO; MEDINA, 1991).

Nossos resultados demonstraram que a solifenacina aumentou os níveis de nitrito apenas no HC dos camundongos estudados. Por outro lado, o ALA foi capaz de reverter esse efeito da solifenacina em ambos os protocolos de associação. Em todas as áreas cerebrais estudadas, o ALA sozinho ou associado à solifenacina reduziu os níveis de nitrito. Um achado interessante desses resultados é que a solifenacina mostrou um efeito seletivo apenas no HC,

em comparação com as outras duas áreas cerebrais estudadas. O HC funciona como um local de influência modulatória para muitos tipos de memória, como memória de trabalho, espacial, verbal, contextual, entre outras (BECHARA et al., 1995; IZQUIERDO; MEDINA, 1991). É também uma área do cérebro que possui altos níveis de ERO, espécies reativas de nitrogênio e espécies reativas de enxofre e está relacionada ao processo inflamatório no SNC (KROPF; FAHNESTOCK, 2021; SULTANA et al., 2008).

A solifenacina, principalmente na dose mais alta e no protocolo de 28 dias, elevou os parâmetros que indicam peroxidação lipídica nas três áreas cerebrais estudadas. O ALA foi capaz de reverter esse efeito nos dois protocolos estudados. Esse dado é extremamente importante quando se avalia os efeitos dessa droga no SNC, considerando a estreita relação entre doenças neurodegenerativas e aumento dos níveis de estresse oxidativo cerebral (ALLAN BUTTERFIELD; BOYD-KIMBALL, 2018; BENNETT; GRANT; ALDRED, 2009; BUTTERFIELD; HALLIWELL, 2019; CIOFFI; ADAM; BROERSEN, 2019; IONESCU-TUCKER; COTMAN, 2021; SONG et al., 2021). Outros medicamentos anticolinérgicos, como a escopolamina, são conhecidos por aumentar os níveis de estresse nitro-oxidativo (PROKAI-TATRAI et al., 2022).

Em conjunto, os resultados dos testes comportamentais e de estresse nitro-oxidativo apontam para uma correlação entre as alterações encontradas e a dose e tempo de tratamento com solifenacina (figura 16). Na dose mais alta (2mg/kg) e período de tratamento mais longo (28 dias) observa-se aumento de nitrito e TBARS no HC (não houve aumento de nitrito nas demais áreas cerebrais), com diminuição do índice de reconhecimento de objetos e do tempo de latência de descida, os quais são testes de memória que sugerem alterações no HC. O uso do ALA não só diminuiu os níveis de nitrito e TBARS como produziu melhora da memória.

Resultados anteriores do nosso grupo de pesquisa mostraram que o ALA, um potente antioxidante e anti-inflamatório, tem efeito neuroprotetor em modelos animais de depressão, esquizofrenia e doenças neurodegenerativas (DE ARAÚJO et al., 2011; DE SOUSA et al., 2019; SAMPAIO et al., 2018). Em estudos direcionados à cognição, memória e doença de Alzheimer, a terapia com ALA melhora potencialmente a sinalização de vários neurotransmissores, como dopamina, serotonina e noradrenalina (KAUR et al., 2021). Alguns estudos revelaram que o ALA efetivamente diminui o comprometimento cognitivo em vários casos de doença de Alzheimer e disfunção de memória relacionada à idade. O ALA também é capaz de prevenir a geração de placas amilóide- β , reduzindo assim a neurodegeneração resultante com notável melhora cognitiva (HAGER et al., 2001; KAUR et al., 2021; ZHANG et al., 2001).

A enzima acetilcolinesterase (AChE) é importante para degradação da acetilcolina (ACh) principalmente na fenda sináptica. Alterações na sua atividade podem influenciar diretamente a quantidade de ACh disponível em várias regiões cerebrais como HC, CPF e CE. A sinalização da ACh é crítica para várias funções cerebrais, como cognição, plasticidade sináptica e supressão da inflamação (SIMCHOVITZ; HENEKA; SOREQ, 2017; Vaknine, 2020; HAAM; YAKEL, 2017). Estudos recentes têm identificado que a AChE também participa do processo neuroinflamatório, sendo demonstrada ativação microglial constitutiva, com níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, pelo aumento da atividade desta enzima (ARIKAWA et al., 2016; FURUKAWA; YANG; SAMESHIMA, 2014; GNATEK et al., 2012). Redução dos níveis de ACh são amplamente demonstrados na doença de Alzheimer, que tem como característica principal a presença de depósitos extracelulares do fragmento proteico amilóide- β e acúmulo de uma forma anormal de proteína tau dentro dos neurônios (emaranhados neurofibrilares) em várias regiões cerebrais. De acordo com a "hipótese amilóide", a AChE impulsiona a agregação de amilóide- β por meio da ligação ao sítio de ligação aniônico periférico (CASTRO; MARTINEZ, 2005).

Como o processo inflamatório está relacionado com várias doenças do SNC, como doença de Alzheimer e vários tipos de demências, a importância do entendimento de fármacos que alteram o sistema colinérgico cerebral e, conseqüentemente, o processo inflamatório, tem exigido uma melhor compreensão entre estas vias.

Assim, para melhor elucidar os mecanismos envolvidos do comprometimento cognitivo induzido pela solifenacina, realizamos medições da atividade da AChE e dosagem de citocinas inflamatórias no cérebro.

A administração em doses repetidas de solifenacina não alterou estatisticamente a atividade da AChE nas três regiões cerebrais estudadas. A solifenacina, portanto, não mostrou-se inibidora da atividade desta enzima. Por esses resultados, provavelmente, a atuação da Sol sobre o sistema colinérgico se baseia provavelmente no bloqueio de receptores muscarínicos e não através da modulação da atividade enzimática da AChE.

Diferente dos nossos resultados, Khurana et al (2021) demonstraram que a administração de escopolamina (antagonista competitivo e não seletivo dos receptores muscarínicos), administrada por 14 dias em camundongos, aumentou a atividade da AChE em experimento realizado com homogenato preparado com todo o cérebro (KHURANA; KUMAR; BANSAL, 2021). Provavelmente, nossos resultados estão em desacordo com este estudo por termos utilizado áreas cerebrais específicas em nossa pesquisa, pela maior seletividade da solifenacina por receptores M3, pelo menor tamanho molecular da

escopolamina em relação à solifenacina (RENNER; OERTEL; KIRCH, 2005), o que favorece sua penetração através da BHE, tendo maior taxa de concentração no cérebro em relação ao plasma quando comparada à solifenacina (CALLEGARI et al., 2011). Estudos experimentais mostraram ainda que a escopolamina prejudica os mecanismos de armazenamento e consolidação que levam à perda de aprendizado e memória (por exemplo, reconhecimento, memória episódica e semântica) (GILLES; ERTLÉ, 2000). Nossos resultados mostram que, no protocolo estudado, a solifenacina não apresentou alterações na atividade da AChE, contrastando com o resultado de outros estudos que utilizaram anticolinérgicos não seletivos, não havendo, provavelmente, aumento de efeito neuroinflamatório estimulado pela ação desta enzima (ARIKAWA et al., 2016; FURUKAWA; YANG; SAMESHIMA, 2014; GNATEK et al., 2012).

Por outro lado, a administração do ALA, principalmente no protocolo de prevenção, reduziu a atividade da enzima AChE quando associado à solifenacina no HC e CE, quando comparado com o grupo que utilizou solifenacina por 28 dias. Curiosamente, o ALA sozinho não apresentou nenhuma alteração na atividade dessa enzima.

Uma pesquisa anterior realizada pelo nosso grupo (SOUSA et al., 2015), utilizando um modelo de depressão neuroendócrino, demonstrou que o tratamento com ALA reduziu a atividade da enzima AChE aumentada pela administração de corticosterona. Como dito anteriormente, o aumento da atividade dessa enzima pode estar relacionado à diminuição dos níveis sinápticos de ACh na fenda sináptica. Segundo essa pesquisa, o ALA sozinho ou combinado com desvenlafaxina, reverteu o prejuízo cognitivo induzido pela corticosterona, especialmente nas combinações de ALA 200mg/kg e desvenlafaxina. Esse efeito pode estar relacionado à restauração das vias colinérgicas levando, assim, a um aumento dos efeitos anti-inflamatórios da ACh estimulado pelo ALA.

Vários estudos descrevem que alterações no sistema colinérgico podem levar a vários tipos de demência, bem como distúrbios neuropsiquiátricos, como esquizofrenia, depressão, delirium e traumatismo cranioencefálico, sendo um mecanismo comum para essas doenças (ARCINIEGAS, 2003; BATTAGLIA, 2002; DILSAVER; COFFMAN, 1989; RAEDLER et al., 2007; HSHIEH et al., 2008; JOHANNSSON et al., 2015). Esse fato sugere que fármacos capazes de reduzir a atividade da AChE podem ser benéficos para várias condições clínicas onde se observa déficit cognitivo (SPENCER; NOBLE, 1998; KUMAR et al., 2000; McKEITH et al., 2000; MASANIC et al., 2001; WERBER; RABEY, 2001).

No que se refere à avaliação da neuroinflamação, nossos resultados não verificaram alteração nas citocinas pro-inflamatórias no hipocampo. O efeito anti-oxidante do ALA é bem

descrito, sendo utilizado na clínica médica para várias condições, como dor neuropática do paciente diabético e doença de Alzheimer (NGUYEN, 2018, ÇAKICI, 2016; KAUR et al., 2021; HAGER et al., 2001; SHINTO et al., 2014). Contudo, sua ação anti-inflamatória parece não ser um efeito indireto da ação antioxidante, tendo em vista que nossos resultados evidenciaram que o ALA diminuiu o estresse nitro-oxidativo sem, entretanto, interferir de forma significativa nos níveis de mediadores inflamatórios (TNF- α e IL-1 β). Outro dado que o nosso estudo sugere é que, embora a solifenacina no protocolo estudado seja capaz de prejudicar a memória dos animais e alterar o estresse oxidativo, este processo parece não estar envolvido com o aumento destes marcadores inflamatórios no HC, que é uma área cerebral importante para a memória.

Uma pesquisa realizada por Cheon et al. (2021) demonstrou que o tratamento com escopolamina produziu aumento significativo no nível de ansiedade e prejuízos na memória associado ao aumento do nível de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-18 e TNF- α) e componentes do infamassoma (NLRP3, ASC e caspase-1). Também Iqbal et al. (2020) demonstraram que a escopolamina pode iniciar a cascata inflamatória através do aumento de mediadores inflamatórios (cicloxigenase, TNF- α e fator nuclear Kappa-B). Contudo, conforme foi comentado anteriormente, parece existir uma diferença entre as ações da escopolamina e da solifenacina tanto a nível da atividade da enzima AChE, quanto da via das citocinas. Embora a presente pesquisa não tenha realizado experimento com a escopolamina, fazendo uma comparação com a literatura, acreditamos que esta diferença esteja relacionada à afinidade da ligação da solifenacina aos subtipos de receptores colinérgicos.

Limitações e perspectivas futuras

Durante a pandemia de COVID-19 lidamos com inúmeras dificuldades referentes a restrições de deslocamento para o laboratório, limitação de funcionários e indisponibilidade de animais pelo biotério. Isso limitou algumas ideias iniciais do projeto como a pesquisa, por exemplo, em camundongos mais velhos, já no período de senescência, que seria importante como forma de avaliar os efeitos da solifenacina na idade mais avançada, equivalente à idade que mais utiliza esta droga em humanos.

Como perspectivas futuras, há a possibilidade de se pesquisar outros marcadores de estresse oxidativo, parâmetros antioxidantes (como superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase), alterações em fatores neurotróficos (como fator neurotrófico derivado do cérebro)

e em outras citocinas, avaliação da função mitocondrial, além da avaliação histológica para um melhor entendimento dos efeitos da solifenacina no SNC.

Conclusão

No presente estudo, demonstramos que a administração prolongada e em altas doses de solifenacina prejudica os processos de aprendizado e memória em camundongos e que esse efeito parece ser decorrente do aumento do estresse nitro-oxidativo em áreas cerebrais como CPF, HC e CE, não havendo alterações significativas na atividade da enzima AchE e nem aumento da neuroinflamação. Além disso, o ALA associado à solifenacina, tanto no protocolo de prevenção quanto no de reversão, foi capaz de reverter este efeito da solifenacina de maneira dependente de alterações no estresse nitro-oxidativo.

Tomados em conjunto, nossos dados sugerem que o ALA mostra-se promissor como fármaco adjuvante em pacientes que necessitam de uso prolongado de solifenacina, a fim de prevenir possíveis efeitos deletérios da solifenacina no SNC no tratamento a longo prazo. No entanto, estudos clínicos precisam ser realizados para corroborar a pesquisa pré-clínica.

Contribuições do autor

Todos os autores contribuíram para a concepção e desenho do estudo. A preparação do material, coleta e análise dos dados foram realizadas por todos os autores. A primeira versão do manuscrito foi escrita por Leonardo P. Dantas e Silvania M. M. Vasconcelos e todos os autores comentaram as versões anteriores do manuscrito. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

Financiamento

Este trabalho foi financiado pela Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil (FUNCAP), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil (CNPq).

Disponibilidade de dados

Os conjuntos de dados gerados e/ou analisados durante o estudo atual estão disponíveis com o autor correspondente mediante solicitação razoável.

Declarações**Conflitos de interesse**

Os autores não têm interesses financeiros ou proprietários em qualquer material discutido neste artigo.

Aprovação ética

Os experimentos foram realizados de acordo com o Guia dos Institutos Nacionais de Saúde para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório (NIH 1996). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (número de protocolo 9864280219) da Universidade Federal do Ceará.

REFERÊNCIAS

- ABRAMS, P. et al. Muscarinic receptors: Their distribution and function in body systems, and the implications for treating overactive bladder. **British Journal of Pharmacology**, [s.l.], 148)5, 565–578, 2006.
- ABRAMS, P. et al. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: Report from the standardisation sub-committee of the international continence society. **Neurourology and Urodynamics**, [s.l.], (21)2, 167–178, 2002.
- ABRAMS, P.; ANDERSSON, K. E. Muscarinic receptor antagonists for overactive bladder. **BJU International**, [s.l.], (100)5, 987–1006, 2007.
- ABRAMS, P.; CARDOZO, L.; FALL, M.; GRIFFITHS, D. et al. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: Report from the standardisation sub-committee of the international continence society. **Neurourology and Urodynamics**, [s.l.], (21)2, 67–178, 2002.
- AHMARI, S. E. et al. Repeated cortico-striatal stimulation generates persistent OCD-like behavior. **Science**, [s.l.], (340)6137, 1234-1239, 2013.
- AKBARIAN, M. et al. Amelioration of oxidative stress, cholinergic dysfunction, and neuroinflammation in scopolamine-induced amnesic rats fed with pomegranate seed. **Inflammopharmacology**, [s.l.], (30)3, 1021–1035, 2022.
- AKIYAMA, H. et al. Inflammation and Alzheimer 's disease - Neuroinflammation Working Group. **Mediators of Inflammation**, [s.l.], (21)3, 383-421, 2021.
- ALBOUY, G. et al. Hippocampus and striatum: Dynamics and interaction during acquisition and sleep-related motor sequence memory consolidation. **Hippocampus**, [s.l.], (22)11, 985-1004, 2013.
- ANTUNES, M.; BIALA, G. The novel object recognition memory: Neurobiology, test procedure, and its modifications. **Cognitive Processing**, [s.l.], 13, pages93–110, 2012.
- APA. American Psychiatric Association, **Diagnostic and statistical manual of mental disorders** (5th ed.). 2013.
- ARAKLITIS, G. et al. Anticholinergic prescription: are healthcare professionals the real burden? **International Urogynecology Journal**, [s.l.], (28)8, 1249–1256, 2017.
- ARAÚJO, D. P. DE et al. Behavioral and Neurochemical Effects of Alpha-Lipoic Acid in the Model of Parkinson' s Disease Induced by Unilateral Stereotaxic Injection of 6-Ohda in Rat. **Evid Based Complement Alternat Med**. [s.l.], 1-13, 2013.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: A review. **Animal Behaviour**, [s.I.], (21)2, 205-235, 1973.

ARCINIEGAS, D. B. The cholinergic hypothesis of cognitive impairment caused by traumatic brain injury. **Current Psychiatry Reports**, [s.I.], 5, 391-399, 2003.

ARIKAWA, M. et al. Donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor, attenuates LPS-induced inflammatory response in murine macrophage cell line RAW 264.7 through inhibition of nuclear factor kappa B translocation. **European Journal of Pharmacology**, [s.I.], 789, 17-26, 2016.

ASSOCIATION, A. 2019 ALZHEIMER'S DISEASE FACTS AND FIGURES Includes a Special Report on Alzheimer's Detection in the Primary Care Setting: Connecting Patients and Physicians. **Alzheimer's & Dementia** [s.I.], 15(3): 2019.

AVETISYAN, A. V. et al. Mitochondrial dysfunction in neocortex and hippocampus of olfactory bulbectomized mice, a model of Alzheimer's disease. **Biochemistry (Moscow)**, [s.I.], (81)6, 615–623, 2016.

BARTSCH, D. et al. Aplysia CREB2 represses long-term facilitation: Relief of repression converts transient facilitation into long-term functional and structural change. **Cell**, [s.I.], (83)6, 1-14, 1995.

BATTAGLIA, M. Beyond the usual suspects: A cholinergic route for panic attacks. **Molecular Psychiatry**, [s.I.], (7)3, 239-246, 2002.

BECHARA, A. et al. Double dissociation of conditioning and declarative knowledge relative to the amygdala and hippocampus in humans. **Science**, [s.I.], (269)5227, 1115-1118, 1995.

BEHESHTI, F. et al. Beneficial effects of angiotensin converting enzyme inhibition on scopolamine-induced learning and memory impairment in rats, the roles of brain-derived neurotrophic factor, nitric oxide and neuroinflammation. **Clinical and Experimental Hypertension**, [s.I.], (43)6, 505-515, 2021.

BENNETT, S.; GRANT, M. M.; ALDRED, S. Oxidative stress in vascular dementia and alzheimer's disease: A common pathology. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s.I.], (17)2, 245-257, 2009.

BERR, C. Cognitive impairment and oxidative stress in the elderly: results of epidemiological studies. **BioFactors (Oxford, England)**, [s.I.], (13)1–4, 205–9, 2000.

BIEWENGA, G. P.; HAENEN, G. R. M. M.; BAST, A. The pharmacology of the antioxidant: Lipoic acid. **General Pharmacology**, [s.I.], (22)3, 315-331, 1997.

BINDER, J. R.; DESAI, R. H. The neurobiology of semantic memory. **Trends in Cognitive Sciences**, [s.I.], (15)11, 527-536, 2011.

BLAKE, M. G. et al. Choline reverses scopolamine-induced memory impairment by improving memory reconsolidation. **Neurobiology of Learning and Memory**, [s.I.], (98)2, 112-121, 2012.

BREITHAUPT-GRÖGLER, K. et al. Dose-proportionality of oral thioctic acid - Coincidence of assessments via pooled plasma and individual data. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.I.], (8)1, 57-65, 1999.

BREWER, J. B. et al. Making memories: Brain activity that predicts how well visual experience will be remembered. **Science**, [s.I.], (281)5380, 1185-1187, 1998.

BRIONI, J. D. Role of GABA during the multiple consolidation of memory. **Drug Development Research**, [s.I.], (28)1, 3-27, 1993.

BUDSON, A. E. Understanding memory dysfunction. **Neurologist**, [s.I.], (15)2, 71-79, 2009.

BUDSON, A. E.; PRICE, B. H. Memory Dysfunction. **New England Journal of Medicine**, [s.I.], (352)7, 692-699, 2005.

BUDZYNSKA, B. et al. Effects of imperatorin on scopolamine-induced cognitive impairment and oxidative stress in mice. **Psychopharmacology**, [s.I.], (232)5, 931-942, 2015.

BUTTERFIELD, D. A. et al. Evidence that amyloid beta-peptide-induced lipid peroxidation and its sequelae in Alzheimer's disease brain contribute to neuronal death. **Neurobiology of Aging**, [s.I.], 23(5), 655-664, 2002.

BUTTERFIELD, D. A.; HALLIWELL, B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. **Nature Reviews Neuroscience**, [s.I.], 20, 148-160, 2019.

BUTTERFIELD, D.A.; BOYD-KIMBALL, D. Oxidative Stress, Amyloid- β Peptide, and Altered Key Molecular Pathways in the Pathogenesis and Progression of Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s.I.], 62(3), 1345-1367, 2018.

CAFFARO, P. A. et al. Dissociation between memory reactivation and its behavioral expression: Scopolamine interferes with memory expression without disrupting long-term storage. **Neurobiology of Learning and Memory**, [s.I.], (98)3, 235-245, 2012.

CAI, X. et al. Long-term anticholinergic use and the aging brain. **Alzheimer's and Dementia**, [s.I.], (9)4, 377-385, 2013.

ÇAKICI N, et al., Systematic review of treatments for diabetic peripheral neuropathy. **Diabet Med.** [s.I.], (33)11, 1466-1476, 2016.

CALLEGARI, E. et al. A comprehensive non-clinical evaluation of the CNS penetration potential of antimuscarinic agents for the treatment of overactive bladder. **British Journal of Clinical Pharmacology**, [s.I.], (72)2, 235–246, 2011.

CARREAU, J. P. Biosynthesis of Lipoic Acid via Unsaturated Fatty Acids. **Methods in Enzymology**, [s.I.], 62, 152-158, 1979.

CARRIÈRE, I. et al. Drugs with anticholinergic properties, cognitive decline, and dementia in an elderly general population: The 3-city study. **Archives of Internal Medicine**, [s.I.], (169)14, 1317–1324, 2009.

CASTRO, A.; MARTINEZ, A. Peripheral and Dual Binding Site Acetylcholinesterase Inhibitors: Implications in treatment of Alzheimers Disease. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, [s.I.], (1)3, 267-272, 2001.

CÉSAR-FREITAS, K. G. et al. Incidence of dementia in a Brazilian population: The Tremembé Epidemiologic Study. **Alzheimer's and Dementia**, [s.I.], (18)4, 581-590, 2022.

CHAI, E.; HORTON, J. R. Managing pain in the elderly population: Pearls and pitfalls. **Current Pain and Headache Reports**, [s.I.], 14, 409–417, 2010.

CHEON, S. Y. et al. Scopolamine promotes neuroinflammation and delirium-like neuropsychiatric disorder in mice. **Scientific Reports**, [s.I.], (11)1, 1-13, 2021.

CHIU, M. J. et al. Behavioral and psychologic symptoms in different types of dementia. **Journal of the Formosan Medical Association**, [s.I.], (105)7, 556-562, 2006.

CHOI, J. H. et al. Allium hookeri extracts improve scopolamine-induced cognitive impairment via activation of the cholinergic system and anti-neuroinflammation in mice. **Nutrients**, [s.I.], (13)8, 1-10, 2021.

CIOFFI, F.; ADAM, R. H. I.; BROERSEN, K. Molecular Mechanisms and Genetics of Oxidative Stress in Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s.I.], (72)4, 981-1017, 2019.

COUPLAND, C. A. C. et al. Anticholinergic Drug Exposure and the Risk of Dementia: A Nested Case-Control Study. **JAMA Internal Medicine**, [s.I.], (179)8, 1084–1093, 2019.

CUNHA, J. M.; MASUR, J. Evaluation of psychotropic drugs with a modified open field test. **Pharmacology**, [s.I.], (16)5, 259-267, 1978.

DALL'IGNA, O. P. et al. Caffeine and adenosine A2a receptor antagonists prevent β -amyloid (25-35)-induced cognitive deficits in mice. **Experimental Neurology**, [s.I.], (203)1, 241-245, 2007.

DANTAS, L. P. et al. Treatment of bladder dysfunction with solifenacin: is there a risk of dementia or cognitive impairment? **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [s.I.], (8)5, 1433-1440, 2022.

DE ARAÚJO, D. P. et al. The contributions of antioxidant activity of lipoic acid in reducing neurogenerative progression of Parkinson's disease: a review. **The International journal of neuroscience**, [s.I.], (121)2, 51-7, 2011.

DE GROAT, W. C. **Neurologic basis for the overactive bladder**. Urology. **Anais...**1997.

DE GROAT, W. C.; GRIFFITHS, D.; YOSHIMURA, N. Neural control of the lower urinary tract. **Comprehensive Physiology**, [s.I.], (5)1, 327-396, 2015.

DE JONG, L. W. et al. Shape abnormalities of the striatum in Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s.I.], (23)1, 49-59, 2011.

DE SOUSA, C. N. S. et al. Alpha-lipoic acid in the treatment of psychiatric and neurological disorders: a systematic review. **Metabolic Brain Disease**, [s.I.], 34, 39-52, 2019.

DE SOUSA, C. N. S. et al. Neuroprotective evidence of alpha-lipoic acid and desvenlafaxine on memory deficit in a neuroendocrine model of depression. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, [s.I.], (391)8, 803-817, 2018.

DECALF, V. H. et al. Older People's Preferences for Side Effects Associated with Antimuscarinic Treatments of Overactive Bladder: A Discrete-Choice Experiment. **Drugs & Aging**, [s.I.], (34)8, 615-623, 2017.

DECKER, M. W.; TRAN, T.; MCGAUGH, J. L. A comparison of the effects of scopolamine and diazepam on acquisition and retention of inhibitory avoidance in mice. **Psychopharmacology**, [s.I.], (100)4, 515-521, 1990.

DENOBLE, V. J. et al. Vinpocetine: Nootropic effects on scopolamine-induced and hypoxia-induced retrieval deficits of a step-through passive avoidance response in rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, [s.I.], (24)4, 1123-1128, 1986.

DILSAVER, S. C.; COFFMAN, J. A. Cholinergic hypothesis of depression: A reappraisal. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, [s.I.], (9)3, 173-179, 1989.

DINICOLA, S. et al. Alpha-lipoic acid downregulates IL-1 β and IL-6 by DNA hypermethylation in SK-N-BE neuroblastoma cells. **Antioxidants**, [s.I.], (6)4, 1-19, 2017.

- DMOCHOWSKI, R. R. et al. Increased risk of incident dementia following use of anticholinergic agents: A systematic literature review and meta-analysis. **Neurourology and Urodynamics**, [s.I.], (40)1, 28-37, 2021.
- DOROSHYENKO, O.; FUHR, U. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of solifenacin. **Clinical Pharmacokinetics**, [s.I.], 48, 281–302, 2009.
- DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. **Methods in Enzymology**, [s.I.], 186, 421-431, 1990.
- DUDAI, Y.; KARNI, A.; BORN, J. The Consolidation and Transformation of Memory. **Neuron**, [s.I.], 88, 20-32, 2015.
- EHRET, M. J.; CHAMBERLIN, K. W. Current Practices in the Treatment of Alzheimer Disease: Where is the Evidence after the Phase III Trials? **Clinical Therapeutics**, [s.I.], 37(8), 1604-1616, 2015.
- ELLMAN, G.L.; COURTNEY, K.D.; ANDRES, V Jr.; FEATHER-STONE, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochem Pharmacol.** [s.I.], 7, 88-95. 1961.
- ETMINAN, M.; GILL, S.; SAMII, A. Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on risk of Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis of observational studies. **BMJ**. [s.I.], (327)19, 1-5, 2003.
- FERREIRA, S. T. et al. Inflammation, defective insulin signaling, and neuronal dysfunction in Alzheimer's disease. **Alzheimer's and Dementia**, [s.I.], (10)1, 76–83, 2014.
- FERREIRA-VIEIRA, T. H. et al. Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. **Current Neuropharmacology**, [s.I.], (14)1, 101-115, 2016.
- FICK, D. M. et al. American Geriatrics Society 2019 Updated AGS Beers Criteria® for Potentially Inappropriate Medication Use in Older Adults. **Journal of the American Geriatrics Society**, [s.I.], (67)4, 674–694, 2019.
- FOWLER, C. J.; GRIFFITHS, D.; DE GROAT, W. C. The neural control of micturition. **Nature Reviews Neuroscience**, [s.I.], 9, 453–466, 2008.
- FULTON, M. M.; ALLEN, E. R. Polypharmacy in the elderly: a literature review. **Journal of the American Academy of Nurse Practitioners**, [s.I.], (17)4, 123-132, 2005.
- FURINI, C. R. et al. β -adrenergic receptors link NO/sGC/PKG signaling to BDNF expression during the consolidation of object recognition long-term memory. **Hippocampus**, [s.I.], (20)5, 14-26, 2010.

FURUKAWA, S.; YANG, L.; SAMESHIMA, H. Galantamine, an acetylcholinesterase inhibitor, reduces brain damage induced by hypoxia-ischemia in newborn rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, [s.I.], 37, 52-57, 2014.

GALASKO, D. R. et al. Antioxidants for Alzheimer disease: A randomized clinical trial with cerebrospinal fluid biomarker measures. **Archives of Neurology**, [s.I.], (69)7, 836-841, 2012.

GALE, S. A.; ACAR, D.; DAFFNER, K. R. Dementia. **American Journal of Medicine**, [s.I.], (131)10, 1161–1169, 2018.

GARELY, A. D. et al. Symptom bother and health-related quality of life outcomes following solifenacin treatment for overactive bladder: The VESicare open-label trial (VOLT). **Clinical Therapeutics**, [s.I.], (28)11, 1935–1946, 2006.

GERLAI, R. A new continuous alternation task in T-maze detects hippocampal dysfunction in mice. A strain comparison and lesion study. **Behav. Brain Res.** [s.I.], 95, 91–101 1998.

GERSCHMAN, R. et al. Oxygen poisoning and X-irradiation: A mechanism in common. **Science**, [s.I.], (119)3097, 623-626, 1954.

GILLES, C.; ERTLÉ, S. Pharmacological models in Alzheimer's disease research. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, [s.I.], (2)3, 247-255, 2000.

GNATEK, Y. et al. Acetylcholinesterase loosens the brain's cholinergic anti-inflammatory response and promotes epileptogenesis. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, [s.I.], 5(66): 1-10, 2012.

GNJIDIC, D. et al. The Impact of Dementia Diagnosis on Patterns of Potentially Inappropriate Medication Use among Older Adults. **Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences**, [s.I.], (73)10, 1410-1417, 2018.

GOLD, P. E. The use of avoidance training in studies of modulation of memory storage. **Behavioral and Neural Biology**, [s.I.], (46)1, 87–98, 1986.

GORACA, A. et al. Lipoic acid - biological activity and therapeutic potential. **Pharmacological reports: PR**, [s.I.], (63)4, 849–58, 2011.

GORMLEY, E. A. et al. Diagnosis and treatment of overactive bladder (non-neurogenic) in adults: AUA/SUFU guideline. **Journal of Urology**, [s.I.], (188)6, 2455–2463, 2012.

GOULD, T. D.; DAO, D. T.; KOVACSICS, C. E. Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice. Chapter 1: The Open Field Test. **Neuromethods**, 42, 2009.

GRAMMAS, P.; OVASE, R. Inflammatory factors are elevated in brain microvessels in Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**, [s.I.], (22)6, 837–842, 2001.

GRAY, S. L. et al. Cumulative Use of Strong Anticholinergic Medications and Incident Dementia Shelly. **JAMA Intern Med.**, [s.I.], (175)3, 401–407, 2015.

GREEN, L. C.; TANNENBAUM, S. R.; GOLDMAN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**, [s.I.], (212)4490, 56-58, 1981.

GREENE, J. D. W.; HODGES, J. R. Identification of famous faces and famous names in early Alzheimer's disease: Relationship to anterograde episodic and general semantic memory. **Brain**, [s.I.], (119)1, 111-128, 1996.

GRIFFIN, W. S. T. et al. Brain interleukin 1 and S-100 immunoreactivity are elevated in Down syndrome and Alzheimer disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s.I.], (86)19, 7611–7615, 1989.

GROSSI, C. M. et al. Anticholinergic and benzodiazepine medication use and risk of incident dementia: A UK cohort study. **BMC Geriatrics**, [s.I.], (19)1, 1–10, 2019.

GROTHER, M.; HEINSEN, H.; TEIPEL, S. J. Atrophy of the cholinergic basal forebrain over the adult age range and in early stages of Alzheimer's disease. **Biological Psychiatry**, [s.I.], (71)9, 805-815, 2012.

HAAB, F. et al. Long-Term Open-Label Solifenacin Treatment Associated with Persistence with Therapy in Patients with Overactive Bladder Syndrome. **European Urology**, [s.I.], (47)3, 376–384, 2005.

HAAM, J.; YAKEL, J. L. Cholinergic modulation of the hippocampal region and memory function. **Journal of Neurochemistry**, [s.I.], (142)2, 111-121, 2017.

HAGER, K. et al. Alpha-lipoic acid as a new treatment option for Alzheimer type dementia. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, [s.I.], 32(3), 275-82, 2001.

HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative Psychology**, [s.I.], (18)3, 385-403, 1934.

HAMPEL, C. et al. Solifenacin in the Elderly: Results of an Observational Study Measuring Efficacy, Tolerability and Cognitive Effects. **Urologia Internationalis**, [s.I.], (98)3, 350–357, 2017.

HAMPEL, H. et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. **Brain**, [s.I.], (141)7, 1917-1933, 2018.

HANSEN, D. V.; HANSON, J. E.; SHENG, M. **Microglia in Alzheimer's disease. Journal of Cell Biology**, [s.I.], (217)2, 459–472, 2018.

HANSEN, R. A. et al. Efficacy and safety of donepezil, galantamine, and rivastigmine for the treatment of Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. **Clinical Interventions in Aging**, [s.I.], (3)2, 211-25, 2008.

HARNOD, T. et al. Use of bladder antimuscarinics is associated with an increased risk of dementia: a retrospective population-based case–control study. **Scientific Reports**, [s.I.], (11)1, 61-63, 2021.

HAUGAARD, N.; LEVIN, R. M.; SURNAME, F. Regulation of the activity of choline acetyl transferase by lipoic acid. **Molecular and Cellular Biochemistry**, [s.I.], (213)1–2, 1-11, 2000.

HAYLEN, B. T. et al. An International Urogynecological Association (IUGA)/International Continence Society (ICS) Joint Report on the Terminology for Female Pelvic Floor Dysfunction. **Neurourology and Urodynamics**, [s.I.], 29, 4–20, 2010.

HEINDEL, W. C. et al. Neuropsychological evidence for multiple implicit memory systems: A comparison of Alzheimer's, Huntington's, and Parkinson's disease patients. **Journal of Neuroscience**, [s.I.], (9)2, 582-587, 1989.

HENEKA, M. T. et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. **The Lancet Neurology**, [s.I.], (14)4, 388–405, 2015.

HOLMQUIST, L. et al. Lipoic acid as a novel treatment for Alzheimer's disease and related dementias. **Pharmacology and Therapeutics**, [s.I.], (113)1, 154-164, 2007.

HSHIEH, T.T. et al. Cholinergic Deficiency Hypothesis in Delirium: A Synthesis of Current Evidence, **The Journals of Gerontology**: [s.I.], (63)7, 764–772, 2008.

IKEDA, K. et al. M3 receptor antagonism by the novel antimuscarinic agent solifenacin in the urinary bladder and salivary gland. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, [s.I.], (366)2, 97–103, 2002.

ILL-RAGA, G. et al. Amyloid- β peptide fibrils induce nitro-oxidative stress in neuronal cells. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s.I.], (22)2, 641-652, 2010.

IONESCU-TUCKER, A.; COTMAN, C. W. Emerging roles of oxidative stress in brain aging and Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**, [s.I.], 107, 86-95, 2021.

IQBAL, S. et al. Succinamide derivatives ameliorate neuroinflammation and oxidative stress in scopolamine-induced neurodegeneration. **Biomolecules**, [s.I.], (10), 1-19, 2020.

ISHOLA, I. O. et al. Combretum mucronatum and Capparis thoningii prevent scopolamine-induced memory deficit in mice. **Pharmaceutical Biology**, [s.I.], (51)1, 49-57, 2013.

ISLAM, M. T. Antioxidant activities of dithiol alpha-lipoic acid. **Bangladesh Journal of Medical Science**, [s.I.], (8)3, 1-6, 1970.

IZQUIERDO, I. et al. CNQX infused into rat hippocampus or amygdala disrupts the expression of memory of two different tasks. **Behavioral and Neural Biology**, [s.I.], (59)1, 1-4, 1993.

IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H. GABAA receptor modulation of memory: the role of endogenous benzodiazepines. **Trends in Pharmacological Sciences**, [s.I.], 12, 260-265, 1991.

JAKOBSEN, S. M.; KERSTEN, H.; MOLDEN, E. Evaluation of brain anticholinergic activities of urinary spasmolytic drugs using a high-throughput radio receptor bioassay. **Journal of the American Geriatrics Society**, [s.I.], (59)3, 501–505, 2011.

JÄNICKE, B.; COPER, H. Tests in Rodents for Assessing Sensorimotor Performance During Aging. **Advances in psychology** [s.I.], 114, 201-233, 1996.

JAROUDI, W. et al. Factors underlying cognitive decline in old age and Alzheimer's disease: The role of the hippocampus. **Reviews in the Neurosciences**, [s.I.], (28)7, 1-10, 2017.

JAWAID, T. et al. Evaluation of Cucurbita maxima extract against scopolamine-induced amnesia in rats: Implication of Tumour necrosis factor alpha. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, [s.I.], 69, 9–10, 2014.

JESSEN, F. et al. Anticholinergic drug use and risk for dementia: Target for dementia prevention. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, [s.I.], 260, 111-115, 2010.

JO, S. H. et al. Mitigating effect of lindera obtusiloba blume extract on neuroinflammation in microglial cells and scopolamine-induced amnesia in mice. **Molecules**, [s.I.], (26)10, 1-13, 2021.

JOHANSSON, M. et al. The acetylcholine index: an electroencephalographic marker of cholinergic activity in the living human brain applied to Alzheimer's disease and other dementias. **Dement Geriatr Cogn Disord**. [s.I.], (39)3-4, 132-42, 2015.

JOHNELL, K.; KLARIN, I. The Relationship between Number of Drugs and Potential Drug-Drug Interactions in the Elderly. **Drug Safety**, [s.I.], (30)10, 911-918, 2007.

KACHRU, N. et al. Potentially inappropriate anticholinergic medication use in older adults with dementia. **Journal of the American Pharmacists Association**, [s.I.], (55)6, 603–612, 2015.

KACHRU, N. et al. Risk of Mortality Associated with Non-selective Antimuscarinic medications in Older Adults with Dementia: a Retrospective Study. **Journal of General Internal Medicine**, [s.I.], 35, 2084–2093, 2020.

KALUEFF, A. V et al. Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience HHS Public Access. **Nat Rev Neurosci**, [s.I.], (17)1, 45–59, 2016.

KALUEFF, A. V. et al. Analyzing grooming microstructure in neurobehavioral experiments. **Nature Protocols**, [s.I.], (2)10, 2538-2544, 2007.

KANDEL, E. R.; DUDAI, Y.; MAYFORD, M. R. The molecular and systems biology of memory. **Cell**, [s.I.], (157)1, 163-186, 2014.

KAUR, D. et al. Decrypting the potential role of α -lipoic acid in Alzheimer's disease. **Life Sciences**, [s.I.], (284)1, 1-14, 2021.

KAY, G. et al. Differential Effects of the Antimuscarinic Agents Darifenacin and Oxybutynin ER on Memory in Older Subjects. **European Urology**, [s.I.], (50)2, 317-326, 2006.

KAY, G. G.; EBINGER, U. Preserving cognitive function for patients with overactive bladder: Evidence for a differential effect with darifenacin. **International Journal of Clinical Practice**, [s.I.], (62)11, 1792–1800, 2008.

KEITH, D. J. et al. Age and gender dependent bioavailability of R- and R,S- α -lipoic acid: A pilot study. **Pharmacological Research**, [s.I.], (66)3, 199-206, 2012.

KESSLER, T. M. et al. Adverse event assessment of antimuscarinics for treating overactive bladder: A network meta-analytic approach. **PLoS ONE**, [s.I.], (6)2, 1-11, 2011.

KHURANA, K.; KUMAR, M.; BANSAL, N. Lacidipine Prevents Scopolamine-Induced Memory Impairment by Reducing Brain Oxido-nitrosative Stress in Mice. **Neurotoxicity Research**, [s.I.], (39)4, 1087-1102, 2021.

KINLAW, A. C. et al. Impact of New Medications and \$4 Generic Programs on Overactive Bladder Treatment among Older Adults in the United States, 2000-2015. **Medical Care**, [s.I.], (56)2, 162-170, 2018.

KIRKLAND, J. L.; TCHKONIA, T. Cellular Senescence: A Translational Perspective. **EBioMedicine**, [s.I.], 21, 21-28, 2017.

KOBAYASHI, S.; IKEDA, K.; MIYATA, K. Comparison of in vitro selectivity profiles of solifenacin succinate (YM905) and current antimuscarinic drugs in bladder and salivary glands: A Ca²⁺ mobilization study in monkey cells. **Life Sciences**, [s.l.], (74)7, 843-853, 2004.

KONISHI, K. et al. Hippocampus-dependent spatial learning is associated with higher global cognition among healthy older adults. **Neuropsychologia**, [s.l.], 106, 310-321, 2017.

KOSILOV K, et al. Influence of the short-term intake of high doses of solifenacin and trospium on cognitive function and health-related quality of life in older women with urinary incontinence. **Int Neurourol J**; [s.l.], 22, 41–50, 2018b.

KOSILOV, K. et al. Cognitive functions and health-related quality of life in men with benign prostatic hyperplasia and symptoms of overactive bladder when treated with a combination of tamsulosin and solifenacin in a higher dosage. **Aging Male**, [s.l.], (21)2, 121–129, 2018a.

KRAUWINKEL, W. J. J. et al. Effect of age on the pharmacokinetics of solifenacin in men and women. **International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics**, [s.l.], (43)5, 227–238, 2005.

KROPF, E.; FAHNESTOCK, M. Effects of reactive oxygen and nitrogen species on trka expression and signalling: Implications for prongf in aging and alzheimer's disease. **Cells**, [s.l.], (10)8, 1-15, 2021.

KRYSCIO, R. J. et al. Association of antioxidant supplement use and dementia in the prevention of Alzheimer's disease by Vitamin E and selenium trial (PREADViSE). **JAMA Neurology**, [s.l.], (74)5, 567-573, 2017.

KUMAR, V. et al., An efficacy and safety analysis of ExelonR in Alzheimer's disease patients with concurrent vascular risk factors. **European journal of neurology: the official journal of the European Federation of Neurological Societies**, [s.l.], (159)69, 159-169, 2000.

LEE, S. J.; BAEK, J.-H.; KIM, Y.-H. Brain-derived Neurotrophic Factor Is Associated with Cognitive Impairment in Elderly Korean Individuals. **Clinical psychopharmacology and neuroscience: the official scientific journal of the Korean College of Neuropsychopharmacology**, [s.l.], (13)3, 283–7, 2015.

LEVEY, A. I. Muscarinic acetylcholine receptor expression in memory circuits: Implications for treatment of Alzheimer disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s.l.], (93)24, 13541-13546, 1996.

LI, H. T. et al. Differential effects of coenzyme Q10 and α -lipoic acid on two models of in vitro oxidative damage to the rabbit urinary bladder. **International Urology and Nephrology**, [s.l.], (43)1, 91–97, 2011.

LIU, Z. et al. GAPT regulates cholinergic dysfunction and oxidative stress in the brains of learning and memory impairment mice induced by scopolamine. **Brain and Behavior**, [s.I.], (10)5, 1-17, 2020.

LIVINGSTON, G. et al. Dementia prevention, intervention, and care. **The Lancet**, [s.I.], 390, 2673–2734, 2017.

LIVINGSTON, G. et al. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. **The Lancet**, n. August, [s.I.], 413–446, 2020.

LOVELL, M. A. et al. Protection against amyloid beta peptide and iron/hydrogen peroxide toxicity by alpha lipoic acid. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s.I.], (5)3, 229-239, 2003.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, [s.I.], (19)1, 265-75, 1951.

LUEPTOW, L. M. Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. **Journal of Visualized Experiments**, [s.I.], (2017)126, 1-9, 2017.

MACKENZIE, I. R. A. Anti-inflammatory drugs and Alzheimer-type pathology in aging. **Neurology**, [s.I.], (54)3, 732-734, 2000.

MACZUREK, A. et al. Lipoic acid as an anti-inflammatory and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease☆. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s.I.], (60)13–14, 1463–1470, 2008.

MANCUSO, M. et al. Mitochondria, cognitive impairment, and Alzheimer's disease. **International journal of Alzheimer's disease**, [s.I.], 2009, 1-9, 2009.

MANDREKAR, S.; LANDRETH, G. E. Microglia and Inflammation in Alzheimer's Disease. **CNS Neurol Disord Drug Targets**, [s.I.], (9)2, 156-167, 2010.

MANISCALCO, M. et al. Solifenacin succinate for the treatment of symptoms of overactive bladder. **Clinical Therapeutics**, [s.I.], (28)9, 1247–1272, 2006.

MANSFIELD, K. J. et al. Muscarinic receptor subtypes in human bladder detrusor and mucosa, studied by radioligand binding and quantitative competitive RT-PCR: Changes in ageing. **British Journal of Pharmacology**, [s.I.], (144)8, 1089–1099, 2005.

MARGULIS, A. V. et al. Patterns of use of antimuscarinic drugs to treat overactive bladder in Denmark, Sweden, and the United Kingdom. **PLoS ONE**, [s.I.], (13)9, 1-13, 2018.

MARNETT, L. J. Lipid peroxidation - DNA damage by malondialdehyde. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, [s.I.], (424)1–2, 83-95, 1999.

MARUYAMA, S. et al. In vivo quantitative autoradiographic analysis of brain muscarinic receptor occupancy by antimuscarinic agents for overactive bladder treatment. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [s.I.], (386)1, 774-781, 2008.

MASANIC C. A. et al. Open-label study of donepezil in traumatic brain injury. **Arch Phys Med Rehabil**, [s.I.], (82)7, 896-901, 2001.

MATTHEWS, B. R. Memory dysfunction. **CONTINUUM Lifelong Learning in Neurology**, [s.I.], (27)6, 613-623, 2015.

MAURER, S. V.; WILLIAMS, C. L. The cholinergic system modulates memory and hippocampal plasticity via its interactions with non-neuronal cells. **Frontiers in Immunology**, [s.I.], 8, 1-14, 2017.

MAURO, G. et al. α -Lipoic Acid and Superoxide Dismutase in the Management of Chronic Neck Pain: A Prospective Randomized Study. **Drugs in R&D**, [s.I.], (14)1, 1–7, 2014.

MCGEER, P. L.; MCGEER, E. G. NSAIDs and Alzheimer disease: Epidemiological, animal model and clinical studies. **Neurobiology of Aging**, [s.I.], (28)5, 639-647, 2007.

MCKEITH, I. et al. Efficacy of rivastigmine in dementia with Lewy bodies: a randomised, double-blind, placebo-controlled international study. **Lancet**, [s.I.], (16)356, 2031-2036, 2000.

MCKHANN, G. M. 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 and Dementia**, [s.I.], (7)3, 263-269, 2011.

METCALFE, J.; FISHER, R. P. The relation between recognition memory and classification learning. **Memory & Cognition**, [s.I.], (14)2, 164–173, 1986.

MILLER, D. M.; BUETTNER, G. R.; AUST, S. D. Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions. **Free Radical Biology and Medicine**, [s.I.], (8)1, 95-108, 1990.

MILLER, G. E. et al. Determinants of Potentially Inappropriate Medication Use among Community-Dwelling Older Adults. **Health Services Research**, [s.I.], (52)4, 1534-1549, 2017.

MILSOM, I. et al. A Nordic registry-based study of drug treatment patterns in overactive bladder patients. **Scandinavian Journal of Urology**, [s.I.], (53)4, 246-254, 2019.

MORRIS, R. G. M. et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. **Nature**, [s.I.], (297)5868, 681-683, 1982.

MORTAZAVI, S. S. et al. Defining polypharmacy in the elderly: A systematic review protocol. **BMJ Open**, [s.I.], (6)3, 1-4, 2016.

MUHAMMAD, T. et al. Melatonin Rescue Oxidative Stress-Mediated Neuroinflammation/Neurodegeneration and Memory Impairment in Scopolamine-Induced Amnesia Mice Model. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, [s.I.], (14)2, 278–294, 2019.

NADEL, L.; MOSCOVITCH, M. Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. **Current Opinion in Neurobiology**, [s.I.], (7)2, 217-227, 1997.

NATALIN, R.; LORENZETTI, F.; DAMBROS, M. Management of OAB in those over age 65. **Current Urology Reports**, [s.I.], (14)5, 379–385, 2013.

NECHBA, R. B. et al. Difficulty in managing polypharmacy in the elderly: Case report and review of the literature. **Journal of Clinical Gerontology and Geriatrics**, [s.I.], (6)1, 30-33, 2015.

NEWMAN, L. A.; GOLD, P. E. Attenuation in rats of impairments of memory by scopolamine, a muscarinic receptor antagonist, by mecamylamine, a nicotinic receptor antagonist. **Psychopharmacology**, [s.I.], (233)5, 925-932, 2016.

NGUYEN, N.; TAKEMOTO, J. K. A Case for Alpha-Lipoic Acid as an Alternative Treatment for Diabetic Polyneuropathy. **Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences: a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques**, [s.I.], (21)1, 177–191, 2018.

OHNO, M.; WATANABE, S. Interactive processing between glutamatergic and cholinergic systems involved in inhibitory avoidance learning of rats. **European Journal of Pharmacology**, [s.I.], (312)2, 145-147, 1996.

OHTAKE, A. et al. Pharmacological characterization of a new antimuscarinic agent, solifenacin succinate, in comparison with other antimuscarinic agents. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, [s.I.], (30)1, 54–58, 2007.

OKUTSU, H. et al. Effects of intravenously and orally administered solifenacin succinate (YM905) on carbachol-induced intravesical pressure elevation and salivary secretion in mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, [s.I.], (30)12, 2324-2327, 2007.

ORME, S. et al. Managing Urinary Incontinence in Patients with Dementia: Pharmacological Treatment Options and Considerations. **Drugs and Aging**, [s.I.], (32)7, 559–567, 2015.

ORTA-SALAZAR, E. et al. Cholinergic markers in the cortex and hippocampus of some animal species and their correlation to Alzheimer's disease. **Neurología (English Edition)**, [s.I.], (29)8, 497-503, 2014.

OZBEN, T.; OZBEN, S. Neuro-inflammation and anti-inflammatory treatment options for Alzheimer's disease. **Clinical Biochemistry**, [s.I.], 72, 87-89, 2019.

PACKER, L.; WITT, E. H.; TRITSCHLER, H. J. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. **Free Radical Biology and Medicine**, [s.I.], (19)2, 227-250, 1995.

PAGORIA, D.; O'CONNOR, R. C.; GURALNICK, M. L. Antimuscarinic drugs: Review of the cognitive impact when used to treat overactive bladder in elderly patients. **Current Urology Reports**, [s.I.], (12)5, 351–357, 2011.

PAPEZ, J. W. A proposed mechanism of emotion. **Archives of Neurology And Psychiatry**, [s.I.], (38)4, 725-743, 1937.

PAQUETTE, A.; GOU, P.; TANNENBAUM, C. Systematic review and meta-analysis: Do clinical trials testing antimuscarinic agents for overactive bladder adequately measure central nervous system adverse events? **Journal of the American Geriatrics Society**, [s.I.], (59)7, 1332–1339, 2011.

PARENT, M. J. et al. Cholinergic Depletion in Alzheimer's Disease Shown by [18 F] FEOBV Autoradiography. **International Journal of Molecular Imaging**, [s.I.], 2013, 1-7, 2013.

PARENT, M. J. et al. Cholinergic Depletion in Alzheimer's Disease Shown by [18F] FEOBV Autoradiography. **International Journal of Molecular Imaging**, [s.I.], 2013, 1-6, 2013.

PARK, J.-W. The Effect of Solifenacin on Cognitive Function following Stroke. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders Extra**, [s.I.], (3)1, 143–147, 2013.

PERK, S. et al. Estimated budget impact of increased use of mirabegron, a novel treatment for overactive bladder. **Journal of Managed Care and Specialty Pharmacy**, [s.I.], (22)9, 1072–1084, 2016.

PRESTON, A. R.; EICHENBAUM, H. Interplay of hippocampus and prefrontal cortex in memory. **Current Biology**, [s.I.], (23)17, 1-10, 2013.

PROKAI-TATRAI, K. et al. Rosiridin Attenuates Scopolamine-Induced Cognitive Impairments in Rats via Inhibition of Oxidative and Nitritative Stress Ledged Caspase-3/9 and TNF- α Signaling Pathways. **Molecules**, [s.I.], (27)18, 1-14, 2022.

PURI, V. et al. The selective positive allosteric M1 muscarinic receptor modulator PQCA attenuates learning and memory deficits in the Tg2576 Alzheimer's disease mouse model. **Behavioural Brain Research**, [s.I.], 287, 96-99, 2015.

R.N.DEJ. The Cerebral Cortex of Man. **Neurology**, [s.I.], 1(1) 1951.

RAEDLER, T. J. et al. Towards a muscarinic hypothesis of schizophrenia. **Molecular Psychiatry**, [s.I.], 12, 232-246, 2007.

RAHIMZADEGAN, M.; SOODI, M. Comparison of memory impairment and oxidative stress following single or repeated doses administration of scopolamine in rat hippocampus. **Basic and Clinical Neuroscience**, [s.I.], (9)1, 5-14, 2018.

REAGAN-SHAW, S.; NIHAL, M.; AHMAD, N. Dose translation from animal to human studies revisited. **The FASEB Journal**, [s.I.], (22)3, 659–661, 2007.

RENNER, U. D.; OERTEL, R.; KIRCH, W. Pharmacokinetics and pharmacodynamics in clinical use of scopolamine. Therapeutic Drug Monitoring, **Ther Drug Monit**, [s.I.], (27)5, 655-65, 2005.

RICHARDSON, K. et al. Anticholinergic drugs and risk of dementia: Case-control study. **The BMJ**, [s.I.], 361, 1–12, 2018.

RISACHER, S. L. et al. Association Between Anticholinergic Medication Use and Cognition, Brain Metabolism, and Brain Atrophy in Cognitively Normal Older Adults. **JAMA Neurol**, [s.I.], (73)6, 721–732, 2016.

ROE, C. M.; ANDERSON, M. J.; SPIVACK, B. Use of anticholinergic medications by older adults with dementia. **Research and Practice in Alzheimer's Disease**, [s.I.], 7, 132–137, 2003.

RUAN, J.; YAO, Y. Behavioral tests in rodent models of stroke. **Brain Hemorrhages**, [s.I.], (1)4, 171-184, 2020.

RUDOLPH, J. L. et al. The anticholinergic risk scale and anticholinergic adverse effects in older persons. **Archives of Internal Medicine**, [s.I.], (168)5, 508–513, 2008.

RUSH, D. K. Scopolamine amnesia of passive avoidance: A deficit of information acquisition. **Behavioral and Neural Biology**, [s.I.], (50)3, 255-24, 1988.

- SALAHUDEEN, M. S.; DUFFULL, S. B.; NISHTALA, P. S. Anticholinergic burden quantified by anticholinergic risk scales and adverse outcomes in older people: A systematic review. **BMC Geriatrics**, [s.I.], (15)1, 1-14, 2015.
- SALEHI, B. et al. Insights on the use of α -lipoic acid for therapeutic purposes. **Biomolecules**, [s.I.], (9)8, 1-25, 2019.
- SAMPAIO, L. R. L. et al. Average spectral power changes at the hippocampal electroencephalogram in schizophrenia model induced by ketamine. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, [s.I.], (32)1, 60-68, 2018.
- SCHILLACE, R. V et al. Lipoic acid stimulates cAMP production in T lymphocytes and NK cells. **Biochemical and biophysical research communications**, [s.I.], (354)1, 259–64, 2007.
- SCHNEIDER, J. A. et al. The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. **Annals of Neurology**, [s.I.], (66)2, 2000-2008, 2009.
- SCOTT, B. C. et al. Lipoic and dihydrolipoic acids as antioxidants. A critical evaluation. **Free Radical Research**, [s.I.], (20)2, 119-133, 1994.
- SEKEROGLU, M. A. et al. Ocular surface changes following oral anticholinergic use for overactive bladder. **Cutaneous and Ocular Toxicology**, [s.I.], (35)3, 218–221, 2016.
- SHAY, K. P. et al. Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: Molecular mechanisms and therapeutic potential. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, [s.I.], (1790)10, 1149–1160, 2009.
- SHEN, D. et al. Glutathione redox state regulates mitochondrial reactive oxygen production. **Journal of Biological Chemistry**, [s.I.], (280)27, 25305-25312, 2005.
- SHI, Y. et al. ApoE4 markedly exacerbates tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of tauopathy. **Nature**, [s.I.], 549, 523-527, 2017.
- SHINTO, L. et al. A randomized placebo-controlled pilot trial of omega-3 fatty acids and alpha lipoic acid in Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s.I.], (38)1, 111-120, 2014.
- SILVA, M. C. C. et al. Augmentation therapy with alpha-lipoic acid and desvenlafaxine: A future target for treatment of depression? **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, [s.I.], (386)8, 685-695, 2013.
- SILVA, M. C. C. et al. Evidence for protective effect of lipoic acid and desvenlafaxine on oxidative stress in a model depression in mice. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, [s.I.], 64, 142–148, 2016.

SIMCHOVITZ, A.; HENEKA, M. T.; SOREQ, H. Personalized genetics of the cholinergic blockade of neuroinflammation. **Journal of Neurochemistry**, [s.I.], 142, 178–187, 2017.

SIMUNKOVA, M. et al. Management of oxidative stress and other pathologies in Alzheimer's disease. **Archives of Toxicology**, [s.I.], 93, 2491–2513, 2019.

SINGH, U.; JIALAL, I. Alpha-lipoic acid supplementation and diabetes. **Nutrition Reviews**, [s.I.], 66(11):646-657, 2008.

SONG, T. et al. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, neuroinflammation, and metabolic alterations in the progression of Alzheimer's disease: A meta-analysis of in vivo magnetic resonance spectroscopy studies. **Ageing Research Reviews**, [s.I.], 72, 1-33, 2021.

SOUSA, C. N. S. DE et al. Reversal of corticosterone-induced BDNF alterations by the natural antioxidant alpha-lipoic acid alone and combined with desvenlafaxine: Emphasis on the neurotrophic hypothesis of depression. **Psychiatry Research**, [s.I.], (230)2, 211-219, 2015.

SPENCER, C.M.; Noble, S. Rivastigmine. A review of its use in Alzheimer's disease. **Drugs Aging**, [s.I.], (13)5, 391-411, 1998.

SPERLING, R. A. et al. Functional alterations in memory networks in early alzheimer's disease. **NeuroMolecular Medicine**, [s.I.], 12, pages27–43, 2010.

SPRUIJT, B. M.; VAN HOOFF, J. A. R. A. M.; GISPEN, W. H. Ethology and neurobiology of grooming behavior. **Physiological Reviews**, [s.I.], (72)3, 825-852, 1992.

SRINIVASAN, S.; AVADHANI, N. G. Cytochrome c oxidase dysfunction in oxidative stress. **Free Radical Biology and Medicine**, [s.I.], (53)6, 1252-12663, 2012.

SULLIVAN, P. G.; READNOWER, R. D.; SAUERBECK, A. D. Mitochondria, amyloid β , and Alzheimer's disease. **International Journal of Alzheimer's Disease**, [s.I.], 1-6, 2011.

SULTANA, R. et al. Protein levels and activity of some antioxidant enzymes in hippocampus of subjects with amnesic mild cognitive impairment. **Neurochemical Research**, [s.I.], (33)12, 2540-2546, 2008.

SUZUKI, M. et al. Effect of antimuscarinic drugs used for overactive bladder on learning in a rat passive avoidance response test. **European Journal of Pharmacology**, [s.I.], (557)2–3, 154–158, 2007.

SUZUKI, Y. J.; AGGARWAL, B. B.; PACKER, L. α -Lipoic acid is a potent inhibitor of NF- κ B activation in human T cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s.I.], (189)3, 1709-1715, 1992.

SWARDFAGER, W. et al. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. **Biological Psychiatry**, [s.I.], (68)10, 930–941, 2010.

SZEKELY, C. A. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for the prevention of Alzheimer's disease: A systematic review. **Neuroepidemiology**, [s.I.], (23)4, 159–169, 2004.

TANAKA, Y.; MASUMORI, N.; TSUKAMOTO, T. Urodynamic effects of solifenacin in untreated female patients with symptomatic overactive bladder. **International Journal of Urology**, [s.I.], (17)9, 796–800, 2010.

TEIPEL, S. et al. Cholinergic basal forebrain atrophy predicts amyloid burden in Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**, [s.I.], (35)3, 482–491, 2014.

THANNICKAL, V. J.; FANBURG, B. L. Reactive oxygen species in cell signaling. **American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology**, [s.I.], (279)6, 1005–1028, 2000.

TONEGAWA, S. et al. Memory engram storage and retrieval. **Current Opinion in Neurobiology**, [s.I.], 35, 101–109, 2015.

TÖNNIES, E.; TRUSHINA, E. Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s.I.], (57)4, 1105–1121, 2017.

TRACEY, K. J. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. **Journal of Clinical Investigation**, [s.I.], (117)2, 289–296, 2007.

TRANTAFYLIDIS, L. K. et al. Brain Over Bladder: A Systematic Review of Dual Cholinesterase Inhibitor and Urinary Anticholinergic Use. **Drugs and Aging**, [s.I.], (35)1, 27–41, 2018.

TUCKER, G. J. Principles of Behavioral Neurology and Cognitive Neurology. **The Journal of Nervous and Mental Disease**, [s.I.], (189)1, 66–67, 2001.

UMENO, A.; BIJU, V.; YOSHIDA, Y. *In vivo* ROS production and use of oxidative stress-derived biomarkers to detect the onset of diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and diabetes. **Free Radical Research**, [s.I.], (51)4, 413–427, 2017.

UNITED NATIONS. World Population Prospects 2019: Highlights | Multimedia Library - United Nations Department of Economic and Social Affairs. **United Nations**, [s.I.], (45)3, 689–694, 2019.

VAKNINE, S.; SOREQ, H. Central and peripheral anti-inflammatory effects of acetylcholinesterase inhibitors. **Neuropharmacology**, [s.I.], (15)1681–8, 2020.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, [s.I.], (39)1, 44-84, 2007.

VASCONCELOS, G. S. et al. Alpha-lipoic acid alone and combined with clozapine reverses schizophrenia-like symptoms induced by ketamine in mice: Participation of antioxidant, nitrenergic and neurotrophic mechanisms. **Schizophrenia Research**, [s.I.], (165)2-3, 163-170, 2015.

VENKATESAN, R. et al. Lactucopicrin ameliorates oxidative stress mediated by scopolamine-induced neurotoxicity through activation of the NRF2 pathway. **Neurochemistry International**, [s.I.], 99, 133-146, 2016.

VON BOHLEN UND HALBACH, O.; VON BOHLEN UND HALBACH, V. BDNF effects on dendritic spine morphology and hippocampal function. **Cell and Tissue Research**, [s.I.], (373)3, 729-741, 2018.

VOURI, S. M. et al. Differential prescribing of antimuscarinic agents in older adults with cognitive impairment. **Drugs & Aging**, [s.I.], 35, 321–331, 2018.

WAGG, A. et al. Randomised, multicentre, placebo-controlled, double-blind crossover study investigating the effect of solifenacin and oxybutynin in elderly people with mild cognitive impairment: The SENIOR study. **European Urology**, [s.I.], (64)1, 74–81, 2013.

WAGG, A. Treating overactive bladder in the elderly. **Canadian Urological Association Journal**, [s.I.], (5)5-S2, 149, 2013.

WANG, J. et al. Anti-inflammatory drugs and risk of Alzheimer's Disease: An updated systematic review and meta-analysis. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s.I.], (44)2, 385–396, 2015.

WANG, J. et al. Epigenetic mechanisms in Alzheimer's disease: Implications for pathogenesis and therapy. **Ageing Research Reviews**, [s.I.], (12)4, 1024–1041, 2013.

WARREN, K.; BURDEN, H.; ABRAMS, P. Mirabegron in overactive bladder patients: efficacy review and update on drug safety. **Therapeutic Advances in Drug Safety**, [s.I.], (7)5, 204–216, 2016.

WELK, B.; MCARTHUR, E. Increased risk of dementia among patients with overactive bladder treated with an anticholinergic medication compared to a beta-3 agonist: a population-based cohort study. **BJU International**, [s.I.], (126)1, 183-190, 2020.

WERBER, E.A.; RABEY, J.M. The beneficial effect of cholinesterase inhibitors on patients suffering from Parkinson's disease and dementia. **Journal of Neural Transmission**, (Vienna), (108)11, 1319-1325, 2001.

WESNES, K. A. et al. Exploratory pilot study assessing the risk of cognitive impairment or sedation in the elderly following single doses of solifenacin 10 mg. **Expert Opinion on Drug Safety**, [s.I.], (8)6, 615–626, 2009.

WEST, E. G. et al. Mirabegron and solifenacin are effective for the management of the increased urinary frequency induced by psychological stress in female mice. **Scientific Reports**, [s.I.], (12)1, 1-12, 2022.

WHITEHOUSE, P. J. et al. Alzheimer's disease and senile dementia: Loss of neurons in the basal forebrain. **Science**, [s.I.], (215)4537, 1237-1239, 1982.

XIAN, Y. F. et al. Honokiol improves learning and memory impairments induced by scopolamine in mice. **European Journal of Pharmacology**, [s.I.], 760, 88-95, 2015.

XU, P. et al. Medial prefrontal cortex in neurological diseases. **Physiological Genomics**, [s.I.], (51)9, 432-442, 2019.

YAMADA, S. et al. Basic and clinical aspects of antimuscarinic agents used to treat overactive bladder. **Pharmacology and Therapeutics**, [s.I.], 189, 130–148, 2018.

YAMAGUCHI, O. Latest treatment for lower urinary tract dysfunction: Therapeutic agents and mechanism of action. **International Journal of Urology**, [s.I.], (20)1, 29-39, 2013.

YANG, Y. W. et al. Association between different anticholinergic drugs and subsequent dementia risk in patients with diabetes mellitus. **PLoS ONE**, [s.I.], (12)4, 1–10, 2017.

YEOWELL, G. et al. Real-world persistence and adherence to oral antimuscarinics and mirabegron in patients with overactive bladder (OAB): A systematic literature review. **BMJ Open**, [s.I.], (8)11, 1-8, 2018.

YEOWELL, G. et al. Real-world persistence and adherence to oral antimuscarinics and mirabegron in patients with overactive bladder (OAB): A systematic literature review. **BMJ Open**, [s.I.], (8)11, 1-8, 2018.

YI, F. et al. Direct excitation of parvalbumin-positive interneurons by M1 muscarinic acetylcholine receptors: Roles in cellular excitability, inhibitory transmission and cognition. **Journal of Physiology**, [s.I.], (592)16, 3463-3494, 2014.

YI, J. H. et al. M1 muscarinic acetylcholine receptor dysfunction in moderate Alzheimer's disease pathology. **Brain Communications**, [s.I.], (2)2, 1-29, 2020.

YOSHIYAMA, Y. et al. Does Anticholinergic Activity Affect Neuropathology? Implication of Neuroinflammation in Alzheimer's Disease. **Neurodegener Dis**, [s.I.], 15, 140–148, 2015.

ZHANG, L. et al. α -lipoic acid protects rat cortical neurons against cell death induced by amyloid and hydrogen peroxide through the Akt signalling pathway. **Neuroscience Letters**, [s.I.], (312)3, 125-128, 2001.

ZHANG, R. et al. Effect of (m)VD-hemopressin against A β 1-42-induced oxidative stress and apoptosis in mouse hippocampal neurons. **Peptides**, [s.I.], 124, 1-25, 2020.

ZHANG, R. et al. Novel object recognition as a facile behavior test for evaluating drug effects in A β PP/PS1 Alzheimer's disease mouse model. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s.I.], (31)4, 801-812, 2012.

ZHAO, R. RAN et al. Effects of alpha-lipoic acid on spatial learning and memory, oxidative stress, and central cholinergic system in a rat model of vascular dementia. **Neuroscience Letters**, [s.I.], 587, 113-119, 2015.