



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Gonçalo Nuno Marques Oliveira

Relatório de Estágio sob a orientação da Dra. Rita Machado e Monografia intitulada “Sinapses silenciosas: processos de regulação e aplicações futuras” sobre a orientação do Professor Doutor Nuno Ricardo Ferreira, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2023

1 2 9 0



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Gonçalo Nuno Marques Oliveira

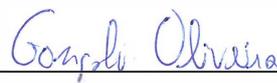
Relatório de Estágio sob a orientação da Dra. Rita Machado e Monografia intitulada “Sinapses silenciosas: processos de regulação e aplicações futuras” sobre a orientação do Professor Doutor Nuno Ricardo Ferreira, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2023

Eu, Gonalo Nuno Marques Oliveira, estudante do Mestrado Integrado em Ci4ncias Farmac4uticas, com o n.º 2017262507, declaro assumir toda a responsabilidade pelo cont4udo do Documento Relat4rio de Est4gio e Monografia intitulada “Sinapses silenciosas: processos de regulao e aplicaes futuras” apresentados  Faculdade de Farmácia de Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Est4gio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmao ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os crit4rios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor,  exceo das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 14 de julho de 2023.



(Gonalo Nuno Marques Oliveira)

Agradecimentos

Ao Professor Doutor Nuno Ricardo Ferreira pelas orientações, esclarecimentos e disponibilidade prestada durante o desenvolvimento da Monografia.

À Dra. Rita Machado e à Dra. Filipa Antunes por todo o conhecimento transmitido e disponibilidade ao longo do estágio.

À equipa da Farmácia Nova de Tomar: Dra. Sofia, Dra. Inês, Dra. Maria, Cláudia, Mateus, Rita, Mariana, Nádine, Inês, Pedro e dona Paula pela amabilidade e aprendizagem contínua ao longo dos meses de estágio em farmácia comunitária.

À minha família e em particular aos meus pais por estarem sempre presentes.

Obrigado!

Preâmbulo

No âmbito da unidade curricular “Estágio”, pertencente ao 5º ano do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra foi desenvolvida a presente monografia intitulada de “Sinapses silenciosas: processos de regulação e aplicações futuras” e o respetivo relatório de Estágio realizado em farmácia comunitária, em concordância com as normas orientadoras em vigor no presente ano letivo 2022/2023.

No presente documento, a primeira parte engloba o relatório de estágio, com uma abordagem em função de uma análise SWOT, acrónimo de *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*, (Forças, Fraquezas, Oportunidades e Ameaças). Este estágio foi realizado na Farmácia Nova de Tomar sob a orientação da farmacêutica, Dra. Rita Machado. O período de estágio foi de 9 de janeiro de 2023 e teve o seu término a 13 de julho de 2023 perfazendo um total de 824 horas.

Numa segunda parte, é abordada a monografia intitulada de “Sinapses silenciosas: processo de regulação e aplicações futuras”, temática por mim elegida, em resultado da curiosidade que esta em mim suscitou.

Índice

PARTE I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas	6
Pontos Fortes	8
a) Equipa da farmácia	8
b) Organização da farmácia	8
c) Filosofia KAIZEN.....	9
d) Participação em diversas atividades.....	9
e) Preparação de manipulados.....	10
f) Notificação de reações adversas.....	11
Pontos Fracos.....	11
a) Aconselhamento de dermocosmética.....	11
b) Aconselhamento de artigos de veterinária.....	11
Oportunidades	12
a) Formações	12
b) Contacto com nomes comerciais de medicamentos.....	12
Ameaças.....	13
a) Medicamentos esgotados	13
b) Locais de venda de MNSRM.....	13
Casos Práticos	14
Considerações Finais	16
Bibliografia	17

PARTE II - Monografia “Sinapses silenciosas: processos de regulação e aplicações futuras”

Abreviaturas.....	19
Resumo	21
Abstract	22
1 Transmissão sináptica	23
2 Glutamato.....	25
2.1 Recetores glutamatérgicos.....	26
2.2 Disfunção da sinalização glutamatérgica/excitotoxicidade	27
2.3 Transportadores de glutamato.....	28
2.4 Ciclo glutamato/glutamina.....	28
3 Sinapses silenciosas.....	29
3.1 Teorias subjacentes ao surgimento das sinapses silenciosas	31
3.2 Deteção de sinapses silenciosas.....	32
3.3 Regulação das sinapses silenciosas	34
3.4 Estabilização/eliminação de sinapses	35
4 Sinapses e a sua relação com LTD e LTP	36
5 Movimentação de AMPAr no terminal pós-sináptico.....	38
6 Disfunção da transmissão glutamatérgica: a sua relação com sinapses e doenças neurodegenerativas	39
7 Modulação das sinapses silenciosas e o seu impacto nas doenças neurodegenerativas	41
8 Conclusão e perspectivas futuras	42
9 Bibliografia	44

PARTE I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Nova de Tomar

farmácia,
nova de tomar

Orientado pela Dra. Rita Machado

Janeiro - julho de 2023

Abreviaturas

DCI – Denominação comum internacional

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamentos não sujeitos a receita médica

MNSRM-EF – Medicamentos não sujeitos a receita médica de venda exclusiva em farmácia

MSRM – Medicamentos sujeitos a receita médica

PIM – Preparação individualizada da medicação

SWOT – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities and Threats*

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

No âmbito da unidade curricular “Estágio”, conferente ao segundo semestre do quinto ano do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas em Ciências Farmacêuticas (MICF), foi realizado um estágio curricular em farmácia comunitária, sendo este uma parte crucial no processo de formação académica, permitindo aplicar em contexto real as competências e o conhecimento adquirido com a formação universitária.

Da palavra comunitária, em farmácia comunitária, vem o significado de algo relativo ou pertencente a uma comunidade¹. Dada a sua abrangência a nível nacional, as farmácias comunitárias, pela alta capacidade técnico-científica dos farmacêuticos comunitários, presenteiam as populações com uma prestação de serviços promotores de saúde, para além de promoverem a dispensa juntamente com o aconselhamento de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e de venda exclusiva em farmácia (MNSRM-EF) e o acompanhamento de tratamentos com medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM). O farmacêutico é um agente de saúde e deve salvaguardar a saúde pública e todas as ações de educação dirigidas à comunidade no sentido da promoção de literacia em saúde, no incentivo à adesão às terapêuticas e ao racional uso de medicamentos.

Enquadramento- Farmácia Nova

Em funcionamento e na prestação de um serviço de excelência à população tomarense desde 1914, a Farmácia Nova pode ser encontrada na Rua de Coimbra, nº. 1, na cidade de Tomar, com um horário de funcionamento que se encontra no intervalo das 9h às 22h.

Na constituição da equipa multidisciplinar sob a direção técnica da Dra. Filipa Antunes, encontramos cinco farmacêuticos, uma técnica de farmácia, quatro técnicas auxiliares de farmácia, um técnico de *back-office* e uma funcionária de limpeza.

No que se refere ao perfil dos utentes da farmácia, observamos os utentes assíduos, fidelizados com a mesma e aí procuram não só adquirir os medicamentos de que necessitam, mas também buscam usufruir de serviços que a farmácia providencia como medições de pressão arterial e de parâmetros bioquímicos, nomeadamente glicémia e colesterol total, e a administração de injetáveis.

Durante os sete meses de estágio nesta instituição, percorri todo o percurso do medicamento, começando pela receção de encomendas com a posterior dispensa num momento de aconselhamento farmacêutico que culmina na monitorização do tratamento.

Análise SWOT

Sob a forma de uma extensa análise SWOT, neste relatório é abordado de forma crítica os pontos fortes e fracos, não esquecendo oportunidades e ameaças, deparadas durante a realização do estágio na Farmácia Nova de Tomar.

Tabela I: Análise SWOT

Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none">➤ Equipa da farmácia➤ Organização da farmácia➤ Filosofia <i>Kaizen</i>➤ Participação em diversas atividades➤ Preparação de manipulados➤ Notificação de reações adversas	<ul style="list-style-type: none">➤ Aconselhamento de dermocosmética➤ Aconselhamento de artigos de veterinária
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none">➤ Formações➤ Contacto com nomes comerciais de medicamentos	<ul style="list-style-type: none">➤ Medicamentos esgotados➤ Locais de venda de MNSRM

Pontos Fortes

a) Equipa da farmácia

A equipa da Farmácia Nova é o ponto mais forte deste estágio. O ambiente laboral é excecionalmente agradável e todos os elementos da equipa foram da maior amabilidade, esclarecendo quaisquer dúvidas neste percurso e apoiando a minha aprendizagem em todas as tarefas e funções desempenhadas numa farmácia comunitária.

b) Organização da farmácia

Na Farmácia Nova existe uma distribuição de tarefas entre a equipa, o que permite um trabalho organizado e cooperativo entre todos. Na sala de atendimento encontram-se os MNSRM atrás do balcão de atendimento e produtos de dermocosmética e puericultura em gôndolas e lineares, organizados por categorias de forma clara e esclarecedora para o utente.

Por sua vez, os medicamentos sujeitos a receita médica estão colocados no *back-office*, seriados por forma farmacêutica e sob ordem alfabética.

A boa organização foi determinante na minha adaptação e rápida compreensão que levou ao reconhecimento dos espaços e dos produtos que os albergavam, tudo de forma intuitiva e sobretudo eficiente.

c) Filosofia KAIZEN

A filosofia *KAIZEN*, praticada neste estabelecimento, promove a melhoria contínua, e para a alcançar são promovidas técnicas e novas abordagens para aumentar a eficiência, obter a melhor organização possível, tendo como finalidade a melhoria da prestação de serviços facultados pela farmácia. Como exemplo desta filosofia temos a realização regular de uma reunião sucinta contendo todos os aspetos a abordar de forma a melhorar e discutir sugestões para o quotidiano da farmácia. Outra amostra consiste na etiquetagem e definição do espaço pertencente a cada o objeto e locais de arrumação de documentos.

d) Participação em diversas atividades

Com o decorrer tive a oportunidade de contribuir em diferentes funções desempenhadas no quotidiano de uma farmácia comunitária. Desde a dispensa de medicamentos hospitalares até à medição de temperaturas, passando pela arrumação de medicamentos, todas as atividades regem-se pelas normas de boas práticas e legislação em vigor. Seguem-se os traços gerais das atividades que desempenhei enquanto estagiário:

Arrumação de medicamentos e de outros produtos de saúde: Esta foi uma das primeiras tarefas desempenhadas. A arrumação é uma tarefa de enorme importância para o eficiente funcionamento de uma farmácia e na Farmácia Nova, a arrumação ocorre em função do tipo de produtos, desde a ampolas, xaropes, saquetas até produtos de aplicação vaginal como exemplos. Esta atividade foi essencial para me inteirar com os procedimentos de arrumação e fez-me aperceber da importância de uma boa organização para a prestação de um serviço de excelência à comunidade.

Receção seguida de conferência de encomendas: Nesta atividade tive um contacto com o sistema informático SIFARMA[®], sendo-me facultado o procedimento para a correta receção de encomendas neste sistema. O contacto com os três fornecedores principais da farmácia,

Alliance Healthcare, Empifarma e Plural permitiu-me perceber a relação de simbiose entre uma farmácia comunitária e os seus fornecedores.

Atendimento ao público: Após de perceber o funcionamento do SIFARMA[®] e de demonstrar maior facilidade no movimento e dos procedimentos da farmácia foi-me apresentada a possibilidade de iniciar o atendimento aos utentes da Farmácia Nova. Aqui coloquei em prática os ensinamentos de uma correta dispensa de medicamentos e de produtos de saúde, não esquecendo os princípios de um correto aconselhamento farmacêutico.

Preparação de medicamentos manipulados: A preparação de produtos manipulados permitiu-me aplicar os conhecimentos do manuseamento correto dos instrumentos de laboratório e da preparação de formas farmacêuticas adquiridos na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. Os medicamentos manipulados revestem-se da maior importância ao suprirem necessidades do mercado farmacêutico conseguindo formulações mais específicas a certas faixas etárias.

Preparação individualizada da medicação: A possibilidade da realização de PIM foi algo que tive oportunidade de executar neste estágio e que considero ser um serviço relevante que é disponibilizado pela farmácia à comunidade. É um serviço que promove fortemente a adesão à terapêutica pelos utentes.

Outros serviços facultados à comunidade: A Farmácia Nova coloca ao dispor da população tomarense, serviços de medição de parâmetros bioquímicos como colesterol total e glicémia, medição da pressão arterial e as pulsações e ainda o serviço de MAPA de 48 horas. A Farmácia Nova faculta ainda serviços de nutrição e de podologia. A prestação deste tipo de serviços permitiu-me realizar medições de pressão arterial e de parâmetros bioquímicos num contexto real.

e) Preparação de manipulados

A Farmácia Nova de Tomar tem um vasto portfólio de medicamentos manipulados e a sua preparação permitiu-me aplicar técnicas e procedimentos de preparação de formas farmacêuticas adquiridos na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. Apesar das diferentes dosagens e formulações dos fármacos, existem faixas etárias, em particular as faixas etárias mais jovens, para as quais as formas farmacêuticas ainda não se encontram devidamente adaptadas. Para além disso, há patologias para as quais ainda não existem muitas alternativas no mercado e para as quais estes tipos de preparações são mais adequadas. Durante o estágio

pude preparar diferentes formas farmacêuticas como cápsulas, suspensões orais e formas semi-sólidas na forma das preparações de cápsulas de minoxidil (1,25 mg; 2,5 mg e 5 mg), soluções alcoólicas de ácido bórico à saturação (m/v) e pomadas de ácido salicílico 10% (m/m).

Apesar da utilidade dos manipulados, não é algo que todas as farmácias comunitárias façam com regularidade e de facto foi importante ter tido a oportunidade de realizar este tipo de preparações.

f) Notificação de reações adversas

Durante o período de estágio tive a oportunidade de participar no processo de comunicação de reações adversas de um fármaco, atividade que está contida no ato farmacêutico. Este procedimento reveste-se na maior importância para o avanço do conhecimento científico e para a execução de medicamentos com cada vez menos efeitos adversos.

Pontos Fracos

a) Aconselhamento de dermocosmética

A farmácia comunitária é uma fonte primária de informação de saúde, e muitos utentes recorrem a este tipo de estabelecimentos com o intuito de obter um aconselhamento farmacêutico em resposta a problemas de saúde ligeiros ou moderados. Deste modo, o aconselhamento farmacêutico constitui uma responsabilidade quotidiana do farmacêutico.

Durante o meu período de estágio deparei-me com dificuldades no aconselhamento de produtos, em particular aqueles de dermocosmética. Durante os cinco anos de MICEF, apenas temos uma unidade curricular que aborda esta temática, “Dermofarmácia e Cosmética” e era importante que estes assuntos fossem abordados de forma mais detalhada durante o plano de estudos, não esquecendo que se trata de uma área em constante crescimento, com introdução regular de novos produtos no mercado.

b) Aconselhamento de artigos de veterinária

Adicionalmente aos artigos de dermofarmácia e cosmética, o aconselhamento de artigos de veterinária foi outra dificuldade com que me deparei. Na Farmácia Nova existe uma grande procura por este tipo de produtos para diferentes animais, em particular animais de

companhia. Seria vantajoso termos uma melhor formação a este nível já que as dificuldades não só se deveram na escolha do produto mais adequado numa dada situação, como também na posologia mais correta.

No entanto, com o contacto quotidiano com estes produtos durante o estágio, consegui inteirar-me dos diferentes aspetos de cada produto, conseguindo complementar os conhecimentos provenientes da Faculdade de Farmácia.

Oportunidades

a) Formações

Durante o período de estágio tive a oportunidade de assistir a formações relativas às mais diversas áreas da intervenção farmacêutica, nomeadamente da marca La Roche Posay® e Heliocare® o que me auxiliou no conhecimento das gamas destas marcas e ter mais contacto com produtos de dermocosmética.

À excelência do exercício profissional farmacêutico, está inerente um acompanhamento em permanência dos mais recentes desenvolvimentos na prática e ciência farmacêutica, normativos profissionais e da legislação, sendo por isso da responsabilidade de cada indivíduo o seu desenvolvimento contínuo com a prática de uma atualização permanente.

Neste contexto vem a participação em formações e *Webinars online* das mais diversas áreas de tratamento e atuação do farmacêutico.

b) Contacto com nomes comerciais de medicamentos

Durante os 5 anos de MICEF, a abordagem do estudo dos fármacos rege-se principalmente pela sua denominação comum internacional (DCI), pelo que se torna mais difícil de os associar com os nomes comerciais dos medicamentos num contexto de farmácia comunitária em que os utentes estão familiarizados na maioria das vezes apenas com os nomes comerciais.

A realização do estágio facilitou este processo de associação, quer no processo de arrumação de medicamentos por ordem alfabética, quer na receção de encomendas.

Ameaças

a) Medicamentos esgotados

Uma situação que ocorreu na duração do estágio foi a indisponibilidade de um elevado número de medicamentos e produtos de saúde, situação que causava grande preocupação à farmácia e por consequência aos seus utentes. Esta situação já é uma realidade das farmácias portuguesas desde há uns anos, sendo já do conhecimento público estas dificuldades de fornecimento de medicamentos. Por diversas vezes, em atendimentos deparei-me com estes constrangimentos, tentando sempre esclarecer da melhor forma, os utentes de que era uma situação a nível nacional e não um exemplo de gestão deficiente da farmácia tal como alguns utentes pensavam. Para lidar da melhor forma esta situação e tentar suprir as necessidades dos utentes, a Farmácia Nova destacou um elemento da equipa para ficar responsável pela gestão dos *stocks* de medicamentos esgotados. Uma das abordagens passou pela gestão atempada de medicamentos que iriam entrar em rutura, assumindo por vezes um *stock* mais elevado do que o valor normal noutra momento. Outro método era o contacto direto com os fornecedores no sentido de averiguar se, naquele momento, já se encontrava disponível o medicamento desejável e perante um caso de rutura, qual era a previsão da sua disponibilidade.

A impossibilidade de dispensar medicação crónica aos utentes foi algo enfrentei por vezes, sendo uma situação desagradável, como exemplo, seleciono o caso da falta de medicamentos para a diabetes.

No entanto, apesar de ser uma situação que afetava todo o país, queria destacar a Farmácia Nova que, pelo trabalho excecional que realizou, conseguiu adquirir, por várias ocasiões, medicamentos rateados que mais nenhuma outra farmácia em Tomar tinha.

b) Locais de venda de MNSRM

Os MNSRM estão sujeitos a comercialização fora das farmácias sempre que os estabelecimentos assegurem os requisitos legais e regulamentares. Estes locais de vendas conseguem oferecer preços mais baixos destes produtos do que aqueles praticados nas farmácias, sendo por isso mais atrativos e representando uma concorrência direta para as farmácias comunitárias. O modo de ação, no sentido da mitigação do problema, passa pela perceção da importância de um bom aconselhamento farmacêutico prestado no contexto de farmácia comunitária com o farmacêutico, como é o caso de utentes que adquirem artigo noutros locais, contudo recorrem às farmácias comunitárias para se inteirarem do correto uso do mesmo.

Casos Práticos

- Relação sexual desprotegida

Jovem do sexo feminino desloca-se à farmácia solicitando a pílula do dia seguinte. A minha primeira abordagem foi perguntar há quanto tempo tinha ocorrido a relação sexual desprotegida e se utilizava algum método contraceptivo, sendo a resposta de uma relação sexual ocorrida cerca de 48 horas antes e que utilizava a pílula contraceptiva, mas que por vezes se esquecia e que tinha ideia de não tomar há pelo menos 3 dias. De seguida, questionei a utente se fazia alguma outra medicação de forma regular ou se tinha alguma patologia, às quais tive uma resposta negativa. Assim, tendo em conta a informação obtida, aconselhei a toma de levonorgestrel na forma de Postinor[®], uma vez que a abrangência da ação vai até às 72h após o ato sexual². Informei a utente acerca de possíveis efeitos secundários como vômitos e náuseas e caso vomitasse nas três horas seguintes da toma, sugeri que repetisse a toma, já que o efeito terapêutico estaria comprometido. Informei a jovem de que não estávamos perante um medicamento abortivo e de que a eficácia não era de 100%. Adverti ainda, que este medicamento não protegia contra doenças sexualmente transmissíveis e realcei a importância das relações sexualmente seguras sugerindo o uso de um método como o preservativo.

- Desconforto gástrico

Senhora sexagenária recorre à farmácia devido a “dores no estômago” e pede a aquisição de um protetor gástrico. Questionei a utente acerca da medicação que fazia, já que estas queixas podiam dever-se a um efeito adverso de um medicamento ou a interações. A utente fazia Beta-histina 24 mg e Sinvastatina 20 mg e recentemente iniciou um tratamento com Brufen[®] 600 mg, Clavamox[®] e Clonix[®] por causa de uma extração dentária. A abordagem do atendimento seguiu-se com uma revisão da forma como a utente realizava a toma dos medicamentos tendo-me apercebido que estava a tomar o Brufen[®] fora das refeições, algo totalmente desaconselhável pode causar úlceras e outras lesões no estômago³. Adverti para esta situação e sugeri a toma de Brufen[®] somente a seguir às principais refeições e respeitando a prescrição médica da toma de 12 em 12 horas.

- Obstipação

Senhor na casa dos 70 anos dirige-se à farmácia com queixas de obstipação, complementando dizendo que não evacuava há mais de três dias. O primeiro passo foi

questionar se evacuava de forma regular, à qual tive a resposta todos os dias. Procedi à análise da medicação efetuada pelo utente, Sinvastatina 20 mg e Perindopril 4 mg, tendo concluído que a obstipação não era efeito adverso de qualquer um destes fármacos. O aconselhamento farmacêutico farmacológico passou pela toma de 1 comprimido de Dulcolax® antes de se deitar, pois o efeito terapêutico demora cerca de 8-12 horas a iniciar-se⁴. Como medidas não farmacológicas sugeri a maior ingestão de fibras, ingerir mais água, estipular uma hora específica para evacuar e tentar praticar mais exercício físico.

- Insónias

Senhora de 40 anos vai à farmácia com queixas de que tem um sono deficiente. A primeira abordagem foi inteirar-me da situação perguntando se as queixas se deviam a uma dificuldade em adormecer ou se tinha despertares, questão à qual a utente respondeu que tinha dificuldade em adormecer. Esta questão permitiu-me concluir que se tratava de uma insónia inicial e após questionar a toma de outra medicação, a utente descreveu-me medicamentos que não têm como efeito adverso perturbações no sono. Sugeri então a toma de Valdispert® 450 mg 30 minutos a 1 hora antes de deitar⁵, advertindo ainda para evitar bebidas estimulantes à noite e tentar estabelecer um ritual promotor de sono com um horário definido e evitar o uso de dispositivos eletrónicos.

- Início do uso de inalador

Um senhor de 65 anos dirige-se à Farmácia Nova com uma receita da medicação crónica e de um inalador o Symbicort® Turbohaler 160 µg/4,5 µg /inalação. Com o início do atendimento pergunto se o inalador já era também habitual, sendo que o utente afirmou ir iniciar agora o tratamento por ter o diagnóstico de DPOC. Demonstrando sinais de que não se sente à vontade com a utilização do inalador, prossigo então à exemplificação e explicação da correta forma da sua utilização. Menciono a importância da coordenação da inspiração com o acionamento da pulverização para a correta inalação do fármaco. Aconselho ainda, após uma inalação, bochechar a boca com água para retirar vestígios da medicação retidos na cavidade bucal, importante principalmente em fármacos constituídos por corticosteróides que potenciam o aparecimento de candidíases bucais se aí permanecerem por mais tempo que o pretendido⁶.

Considerações Finais

O estágio curricular no contexto de uma farmácia comunitária é essencial no sentido de consolidar os conceitos teóricos adquiridos no MICF. O MICF é um curso muito diverso e oferece-nos diversas unidades curriculares que nos permitem a aprendizagem de muitos conceitos e a aquisição de várias competências essenciais que nos permitem evoluir tanto a nível pessoal como profissional.

Este estágio na Farmácia Nova vem no seguimento dos cinco anos de formação na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e fez-me perceber melhor o impacto do farmacêutico na saúde pública ao ser o profissional de saúde mais próximo das populações.

Não poderia deixar de expressar a minha gratidão a toda a equipa da Farmácia Nova pela oportunidade de estagiar nesta instituição e pelo apoio, paciência e pelo esclarecimento de dúvidas. O acompanhamento dispensado pela equipa foi precioso na minha adaptação ao trabalho numa farmácia comunitária. O trabalho com uma equipa numerosa, permitiu-me contactar com diferentes perspetivas e enriqueceu o meu processo de aprendizagem.

Por fim, com estas 824 horas como estagiário numa Farmácia Comunitária, sinto-me mais preparado para desempenhar a profissão de farmacêutico e com mais ferramentas para superar os desafios no futuro.

Bibliografia

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **A Farmácia Comunitária** [Consulta a 12/07/2023]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmaciacomunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. INFARMED – **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO- Postinor®** 1.5 mg 2021. [Consulta a 12/07/2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
3. INFARMED – **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO- Brufen®** 600 mg 2023. [Consulta a 12/07/2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
4. INFARMED – **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO- Dulcolax®** 5 mg 2014. [Consulta a 12/07/2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
5. INFARMED – **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO- Valdispert®** 450 mg 2016. [Consulta a 12/07/2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
6. INFARMED – **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO- Symbicort® Turbohaler 160 µg/4,5 µg /inalação** 2019. [Consulta a 12/07/2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>

PARTE II

Monografia

“Sinapses silenciosas: processos de regulação e aplicações futuras”

Orientado pelo Professor Doutor Nuno Ricardo Ferreira

Abreviaturas

6-OHDA – 6-hidroxidopamina

A-EPSC – Corrente pós-sináptica excitatória mediada por AMPAR

ALS – Esclerose lateral amiotrófica

AMPA – α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico

AMPAr – Recetor α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico

ATD – Domínio aminoterminal

ATP – Trifosfato de adenosina

A-uEPSC – Corrente pós-sináptica excitatória unitária mediada por AMPAR

BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro

CTD – Domínio intracelular carboxi-terminal

CV – Coeficiente de variação

EAAC1 – Transportador excitatório de aminoácidos 1

EAAT1 – Transportador excitatório de aminoácidos 1

EAAT2 – Transportador excitatório de aminoácidos 2

EAAT3 – Transportador excitatório de aminoácidos 3

EAAT4 – Transportador excitatório de aminoácidos 4

EAAT5 – Transportador excitatório de aminoácidos 5

eMAP – *Epitope-preserving magnified analysis of the proteome*

EPSC – Corrente pós-sináptica excitatória

GABA – Ácido gama-aminobutírico

GFAP – *glial fibrillary acidic protein*

GLAST – Transportador glutamato aspartato

GLT1 – Transportador glutamato 1

IP3 – Inositol trifosfato

LBD – Domínio extracelular *ligand binding*

LTD – *Long-term depression*

LTP – *Long-term potentiation*

MAGUK – *scaffolding proteins membrane-associated guanylate kinases*

mEPSC – Micro corrente pós-sináptica excitatória

MK-801 – Dizocilpina

MPTP – *N-metil-4-fenil-pyridinium*

N-EPSC – Corrente pós-sináptica excitatória mediada por NMDAr

NMDA – N-metil-D-aspartato

NMDAr – Recetor N-metil-D-aspartato

PC12 – *pheochromocytoma cells*

PPI – Proteína fosfatase I

PPA – Proteína precursora amilóide

PSD – *Postsynaptic density protein*

SAP102 – proteína associada a sinapse 102

SNC – Sistema nervoso central

SNP – Sistema nervoso periférico

TM – Domínio transmembranar

VGLUT1 – Transportador vesicular de glutamato 1

VGLUT2 – Transportador vesicular de glutamato 2

VGLUT3 – Transportador vesicular de glutamato 3

Resumo

A sinapse é a frágil conexão, que permite a comunicação entre neurónios no encéfalo humano. A transmissão de informação por meio de sinapses, resulta de um potencial de ação proveniente de um neurónio, descrito como célula pré-sináptica que, através de neurotransmissores, provoca uma resposta no neurónio pós-sináptico. As sinapses são facilmente moduladas e sofrem alterações consoante a ação ou a sua ausência de estímulos. A incapacidade de um neurónio pós-sináptico demonstrar resposta excitatória provocada pelo aminoácido glutamato, levou à denominação da existência de uma sinapse silenciosa, que desde cedo foram descritas como sendo sinapses ineficazes e incapazes de exercer efeito pós-sináptico¹. Atualmente, sabe-se que estas sinapses estão relacionadas com problemas no transporte de glutamato através dos recetores AMPA (AMPAr) e têm sido associadas a doenças neurodegenerativas. Existe, no entanto, a possibilidade de serem tornadas funcionais novamente perante um processo de *long-term potentiation* (LTP).

Palavras-chave: Sinapses silenciosas, glutamato, AMPAr, NMDAr, LTP, LTD, doenças neurodegenerativas.

Abstract

The synapse is the fragile connection that allows neurons to communicate among themselves in the human brain. The transmission of information through synapses, results from an action potential coming from a neuron, described as a presynaptic cell that, through neurotransmitters, causes a response in the postsynaptic neuron. Synapses are easily modulated and undergo changes depending on the action or the absence of stimuli. The inability of a postsynaptic neuron to demonstrate an excitatory response caused by the amino acid glutamate, led to the acknowledgment of a silent synapse, that since early on have been described as inefficient synapses and incapable of exerting its postsynaptic effect¹. In this moment is understood that these synapses are related with issues with glutamate transportation by AMPA receptors (AMPA_r) and have been associated with neurodegenerative diseases. Silent synapses can however be recruited and become functional again by following a procedure of long-term potentiation (LTP).

Keywords: Silent synapses, glutamate, AMPA_r, NMDA_r, LTP, LTD, neurodegenerative diseases.

I Transmissão sináptica

O sistema nervoso humano pode ser subdividido em duas secções, o sistema nervoso central (SNC) que incorpora o encéfalo e a medula espinal, e o sistema nervoso periférico (SNP) que por sua vez consiste nos variados tecidos nervosos fora das proximidades do SNC, incluindo assim recetores sensoriais, gânglios, nervos e plexos nervosos. Neste documento vamos focar atenções na unidade básica deste complexo sistema, o neurónio, e todas as conexões que esta célula nervosa efetua durante o normal funcionamento de todo o sistema nervoso.

Os neurónios são células organizadas numa vasta rede que recebem estímulos e transmitem potenciais de ação para outros neurónios ou para órgãos efetores. São constituídas pelo corpo celular e têm duas terminações, o axónio e as dendrites.

A neuroglia compreende os outros tipos de células que constituem o SNC, como os astrócitos, células endoteliais, microglia e oligodendrócitos, cada uma com as suas funções que contribuem para o normal funcionamento do SNC.

Entre neurónios são formadas sinapses, sendo que pode ser definida como um local de passagem de informação. Os neurotransmissores são os mensageiros químicos responsáveis pela ligação entre uma célula pré-sináptica (emissora de informação) e uma célula pós-sináptica (recetora) através de uma diferença de potenciais de ação. Os neurotransmissores consistem em moléculas que, ao serem libertadas a partir do terminal pré-sináptico, após este ser alvo de uma estimulação com Ca^{2+} , atravessam a fenda sináptica com a finalidade de estimular ou inibir a célula pós-sináptica² (Figura 1). De facto, pode-se assumir que a sinapse é o resultado do potencial de ação que ocorre ao longo do neurónio. Num momento de repouso, existe uma maior concentração de K^+ no interior da célula e de Na^+ no exterior e a maioria dos canais iónicos estão encerrados. Durante a despolarização, os canais de Na^+ abrem antes dos de K^+ o que resulta numa entrada mais significativa de Na^+ , tornando o interior membranar mais positivo. Atinge-se um potencial de 35 mv. Segue-se a repolarização, com o encerramento dos canais de Na^+ , cessa a entrada deste catião e visualiza-se uma saída de K^+ de modo a voltar a atingir os -70 mv do potencial de repouso. Fecham-se os dois canais iónicos.

A sinapse é uma ligação facilmente manipulada e consiste na unidade básica de armazenamento de informação no cérebro, o qual contém cerca de 10^4 vezes mais a quantidade de sinapses do que neurónios¹.

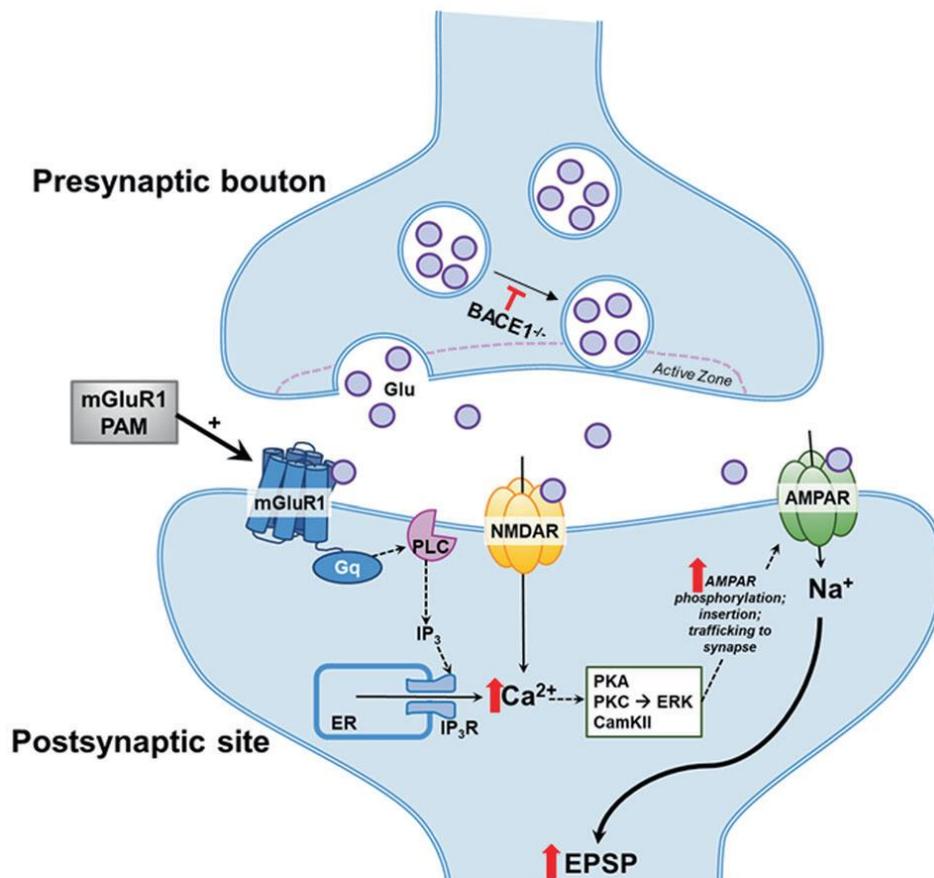


Figura I - Fenda sináptica, adaptado de (84)

As sinapses permitem uma conexão rápida e eficaz entre neurónios, transformando esta informação simultaneamente, sendo que são os neurónios com as bainhas de mielina que permitem uma mais rápida passagem do potencial de ação. Numa sinapse, no terminal pré-sináptico, são sintetizados neurotransmissores que, perante a chegada de um potencial de ação, ocorre a abertura de canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem levando a incorporação de Ca^{2+} no espaço intracelular, que provoca uma fusão das vesículas contendo neurotransmissores com a membrana pré-sináptica, ocorrendo exocitose dos neurotransmissores.

Com a libertação dos neurotransmissores na fenda sináptica, que contém cerca de 20 nm de largura², estes vão ligar-se a recetores específicos, de forma reversível, no terminal pós-sináptico. Dependendo dos recetores ativados, vai observar-se uma despolarização se estivermos perante uma resposta excitatória ou hiperpolarização no caso de uma inibição.

As diferentes propriedades das sinapses são determinadas pelas interações entre os neurónios pré-sinápticos e pós-sinápticos. O lado pré-sináptico depende da libertação de neurotransmissores por exocitose em resposta ao aumento intracelular de Ca^{2+} . O lado pós-sináptico foca-se na receção eficaz dos neurotransmissores.

As sinapses podem evidenciar diferentes propriedades, dependendo do tipo de neurotransmissor, da probabilidade da sua uma libertação eficaz, da composição do recetor e da presença de neuromoduladores. Assim, o cérebro humano compreende centenas de diferentes tipos de sinapse. A estrutura referente ao axónio é capaz de estabelecer uma única sinapse contendo vários neurónios pós-sinápticos ou sinapses múltiplas com um número restrito de neurónios, o que tem consequências ao nível da plasticidade neuronal.

No cérebro adulto a maior parte dos neurónios e respetivas terminações do axónio e dendrites são estáveis, mas as conexões por sinapse não o são. A este elevado *turnover* está implicado uma contínua expressão de proteínas responsáveis pela criação de sinapses^{3,4}.

Acredita-se que a maioria dos neurónios, nas suas terminações pré-sinápticas, liberte apenas um tipo de neurotransmissor seja ele glutamato ou o ácido gama-aminobutírico (GABA). No entanto, já foi testemunhado uma co-transmissão de GABA e glutamato^{5,6}, GABA e acetilcolina⁷, GABA e dopamina⁸, glutamato e acetilcolina^{9,10} e glutamato e dopamina^{11,12}. Portanto, não só existem trocas de libertação de neurotransmissores, como também existem, em certas situações, co-transmissão.

2 Glutamato

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central¹³. Este aminoácido, por si só não apresenta atividade excitatória, ao invés é a resposta dos recetores perante o glutamato que provoca esse efeito. Tem um importante papel no normal desenvolvimento do SNC no qual se inclui a indução e eliminação de sinapses e o desenvolvimento das células neuronais na sua diferenciação e posterior morte. Este neurotransmissor não é exclusivo do SNC sendo também encontrado em órgãos e tecidos do corpo humano. No cérebro atinge concentrações na ordem dos 5-15 mmol/kg dependendo da região¹⁴. É mais abundante na região intracelular dos neurónios e no que se refere ao fluido extracelular, o glutamato apresenta concentrações de 3-4 μM ¹⁵ e no fluido cérebro-espinal concentrações de 10 μM ¹⁶. O glutamato deve ser mantido em baixos valores de concentração a nível extracelular já que este é tóxico em elevadas concentrações por ser induzida uma excessiva ativação dos seus transportadores.

A recaptação de glutamato é o processo pelo qual se dá a entrada de glutamato para o espaço intracelular através de um transportador membranar.

O glutamato é um importante neurotransmissor que tem implicações no processo de consolidação da memória e na aprendizagem¹⁷. Em diferentes ensaios demonstrou-se que após o treino, e após cerca de 30 minutos, é observado uma libertação deste neurotransmissor em cobaias^{18,19}, e uma ativação dos AMPAr, NMDAr e de recetores glutamatérgicos metabotrópicos que é essencial para escrita de uma memória prolongada²⁰. Outra manifestação da importância do glutamato neste processo de memória advém de ensaios em que a administração de um antagonista do recetor metabotrópico mGluR5, logo após o término do treino, causa amnésia em cobaias¹⁷.

2.1 Recetores glutamatérgicos

Sendo o glutamato o mediador de sinais excitatórios, é importante que esteja presente nas concentrações mais adequadas. Os recetores glutamatérgicos AMPA são essenciais na mediação da neurotransmissão excitatória e estão presentes ao longo de todo o SNC.

O glutamato liga-se a diferentes recetores como os recetores de glutamato α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico (AMPA). N-metil-D-aspartato (NMDA) constitui os recetores NR1, NR2A, NR2B, NR2C e NR2D. Ambos são recetores glutamatérgicos ionotrópicos, no entanto a afinidade do NMDAr para o glutamato é superior à do AMPAr²¹. Menção ainda para o recetor ionotrópico kainato cuja função não é tão determinante quanto à dos outros dois recetores ionotrópicos. Existem para além dos ionotrópicos, recetores metabotrópicos de proteína G, mGluR1-8, que estimulam uma enzima efetora, produzindo um mensageiro secundário, o inositol trifosfato (IP3), que mobiliza o Ca^{2+} existente no retículo endoplasmático neuronal.

Os AMPAr são heterómeros que compreendem as subunidades GluA1 a GluA4 sendo normalmente constituído por GluA2 no núcleo o que resulta numa impermeabilidade do recetor ao Ca^{2+} e uma resistência ao bloqueio por poliaminas²². Estes recetores assumem diferentes conformações, dependendo das células onde são existentes e da localização. Em neurónios na região CA1 do hipocampo, os AMPAr são formados somente por duas subunidades GluA2 e duas GluA1 e GluA3 com percentagens 80% e 20% respetivamente, o que indica que 80% dos recetores manifestam composição GluA1/GluA2 e 20% dos heterómeros são GluA2/GluA3²³. Os AMPAr são ainda constituídos por quatro domínios de cariz estrutural, destacando-se o domínio intracelular carboxi-terminal (CTD), domínio transmembranar (TM), domínio extracelular *ligand binding* (LBD) e o domínio aminoterminal

(ATD). Cada domínio especializa-se em funções como ligação ao glutamato, no caso do LBD e TM, enquanto que o CTD tem atuação no movimento seletivo do AMPA²⁴.

Os recetores ionotrópicos de glutamato NMDAr são altamente permeáveis para Ca^{2+} . É um tetrâmero formado por duas subunidades GluN1 e GluN2 e trata-se de um recetor importante ao nível da sinapse, tendo atividade na neuroplasticidade, estando envolvido em processos para o desenvolvimento do SNC e de aprendizagem e de memória.

2.2 Disfunção da sinalização glutamatérgica/excitotoxicidade

Quando comparado com outros neurotransmissores como a serotonina ou dopamina, a concentração de glutamato no SNC em condições normais é por si bastante elevada, atingindo na magnitude de 5 a 10 mmol/kg²⁵. Estes valores de concentração extracelular têm de ser mantidos em valores fisiológicos para se desenrolar uma adequada ativação de recetores sensíveis a glutamato, já que uma excessiva ativação de recetores glutamatérgicos desencadeia fenómenos de excitotoxicidade, que podem culminar em morte das células neuronais²⁶. O glutamato apesar de indispensável, verificou-se que uma concentração de apenas 1-10 μM é suficiente para existir ação dos recetores e como ficou demonstrado por Choi, uma concentração de 10-100 μM é o mínimo para se observar morte de neurónios²⁷.

A excitotoxicidade é um processo complexo, sendo que o cérebro possui mecanismos para evitar que aconteça. No entanto, várias circunstâncias podem desencadear este fenómeno. Por exemplo, a disfunção energética pode causar a falha de recetores glutamatérgicos uma vez que a ativação de recetores ionotrópicos depende do influxo de Na^+ e Ca^{2+} , que no seguimento sofrem efluxo realizado pela Na,K-ATPase num processo com dependência energética. Danos nas mitocôndrias podem tornar os neurónios mais suscetíveis a toxicidade induzida por NMDA²⁸. A isquémia resultante de um estado hiperglicémico é outra causa²⁹. Devido à excessiva estimulação glutamatérgica resultante das elevadas percentagens de glutamato extracelular, já foi observada a formação de espécies reativas de oxigénio³⁰ que interagem com a recaptção de glutamato. Em condições de concentração anormalmente elevada de glutamato na fenda sináptica, gera-se um ciclo vicioso com elevada ativação dos seus recetores e conseqüente consumo excessivo de energia e produção de radicais livres com o potencial de causar danos neurológicos nomeadamente ao nível da recaptção, podendo reverter esse processo causando glutamato excessivo extracelular. Gera-se edema³¹ e posterior isquémia e comprometimento

do fornecimento energético.

2.3 Transportadores de glutamato

Para que a concentração de glutamato possa ser mantida dentro dos limites fisiológicos, existe uma variedade de transportadores que cooperam nesta tarefa. Desde logo, os transportadores VGLUT1 e VGLUT2 são os responsáveis para a recaptação deste neurotransmissor para as vesículas, sendo que uma sobre-expressão de VGLUT1 leva um aumento da atividade glutamatérgica. O VGLUT3 é outro recetor, expresso em variados neurónios, não sendo exclusivo aos que apresentam atividade glutamatérgica³². Os astrócitos evidenciam os transportadores GLAST e GLT1 ou EAAT1 e EAAT2, com função na recaptação de glutamato durante o ciclo glutamato-glutamina. Por fim, incorporados nos neurónios estão EAAC1 ou EAAT3, EAAT4 e EAAT5 providenciais na auto-incorporação de glutamato após ser libertado na fenda sináptica para serem armazenados no neurónio pré-sináptico. Estes transportadores são ainda úteis para limitar o fenómeno de *spillover* que consiste na passagem de glutamato, que se encontra em quantidade excessiva numa fenda sináptica, para outras fendas sinápticas adjacentes onde iriam providenciar um efeito excitatório acrescentado.

2.4 Ciclo glutamato/glutamina

Uma forma de recaptação do glutamato do espaço extracelular é através do ciclo glutamato-glutamina, que se inicia com a incorporação, por parte dos astrócitos, do glutamato excedente proveniente da fenda sináptica. Segue-se uma conversão de glutamato em glutamina, num processo dependente de ATP, pela enzima glutamina sintetase³³, e a glutamina aí formada é libertada por um transportador e será incorporada por neurónios onde é novamente convertida em glutamato por ação da glutaminase³⁴ como é possível observar-se na Figura 2.

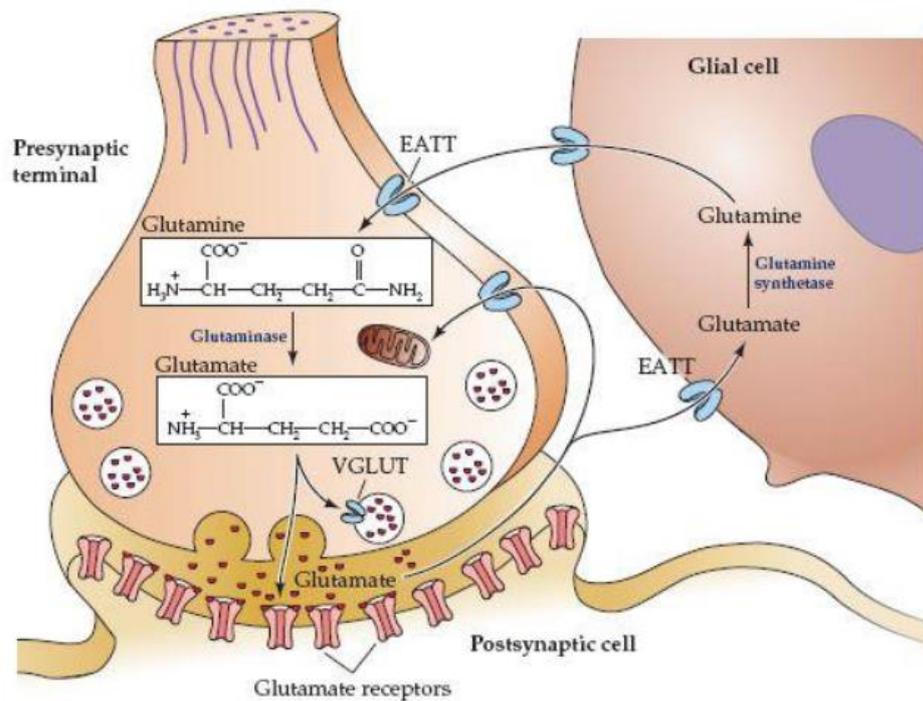


Figura 2- Ciclo glutamato-glutamina, adaptado de (33)

O ciclo glutamato-glutamina tem particular importância por permitir a reciclagem do glutamato libertado na fenda sináptica. A incorporação e posterior conversão deste neurotransmissor no interior dos astrócitos é igualmente importante para a manutenção das vias metabólicas desta célula³⁴.

3 Sinapses silenciosas

Observadas pela primeira vez por Patrick Wall e Eugene Merrill, as sinapses silenciosas foram descritas como sendo sinapses ineficazes e incapazes de exercer efeito pós-sináptico¹. O conceito tomou maior visibilidade com a assunção de que existe uma disparidade entre o número total de sinapses e o número efetivo de sinapses funcionais³⁵, sendo que se estima que num cerebelo adulto, 95% das sinapses entre as células granulares e Purkinje são surpreendentemente silenciosas³⁶.

As sinapses silenciosas podem, portanto, ser definidas como uma ligação sináptica em que uma corrente pós-sináptica excitatória está ausente, apesar de se verificar uma despolarização do terminal pré-sináptico. Abundam no hipocampo, em particular na área CA1¹, no entanto não são exclusivas dessa zona. Desde cedo se atribui a existência destas sinapses como uma resposta a uma necessidade fisiológica num ser jovem, e que seriam abundantes numa fase do desenvolvimento acelerado do corpo humano onde teriam influência

ao nível da formação do circuito neuronal numa fase imatura e posteriormente seriam silenciadas por já não serem necessárias. No entanto, já foram observadas em seres adultos e em quantidades elevadas³⁷.

Um estudo com recurso à técnica *Epitope-preserving magnified analysis of the proteome* (eMAP)³⁸ permitiu a obtenção de imagens de elevada resolução dos AMPAr e NMDAr de protrusões dendríticas em neurónios piramidais corticais. As protrusões dendríticas sem terminal arredondado em forma de cabeça, também denominadas por filopodia (figura 3), foram reportadas em quantidades superiores até então, assumindo uma prevalência na ordem dos 30% de todas as protrusões³⁷. Anticorpos direcionados para as subunidades GluA1 e GluN1 demonstraram a presença de AMPAr e de NMDAr respetivamente, sendo observado em *spines* dendríticas com sinal superior, uma resposta proporcional ao maior tamanho da cabeça da *spine*. Porém, na filopodia o sinal de AMPAr está ausente sugerindo a presença de sinapses silenciosas. Outro dado importante advém do bloqueio induzido por Mg^{2+} em NMDAr que resulta em sinapses silenciosas no potencial de repouso³⁷.

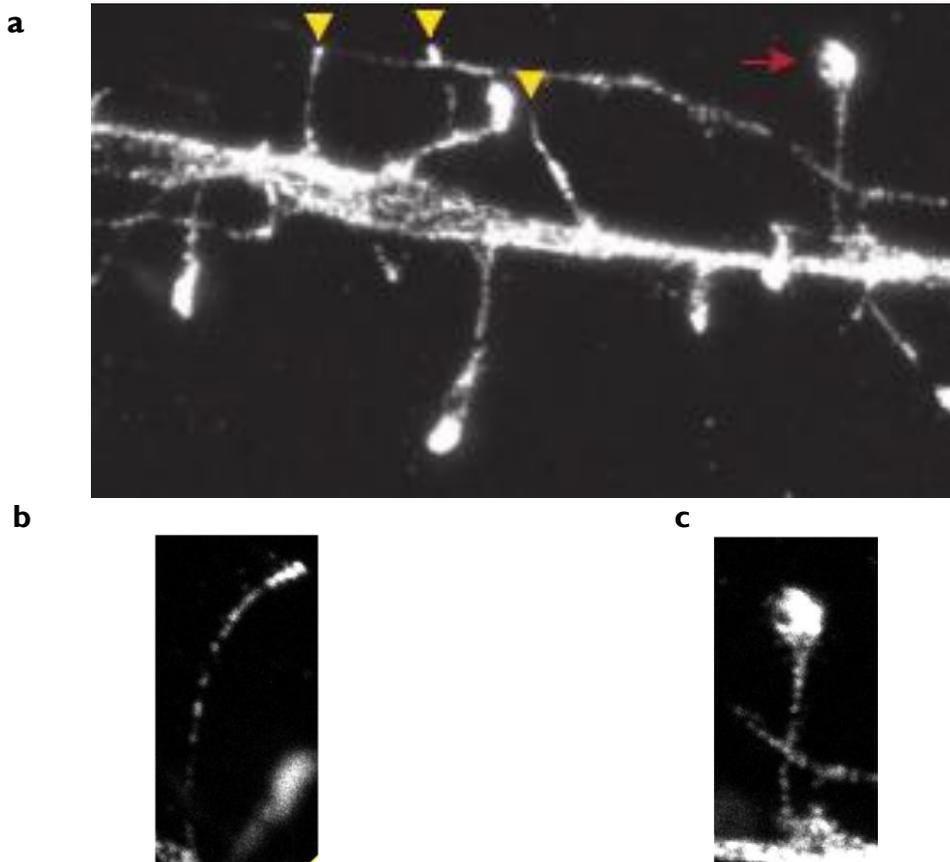


Figura 3- Imagens de um neurónio piramidal L5. **a**, As setas amarelas referem-se a elementos da filopodia, enquanto que as setas vermelhas mostram *spines*. **b**, Imagem de um elemento de filopodia. **c**, Imagem de *spine*, adaptado de (37)

3.1 Teorias subjacentes ao surgimento das sinapses silenciosas

Desde a primeira observação da existência destas sinapses, há mais de 2 décadas¹, que várias teorias têm surgido no sentido de explicar a gênese do fenômeno do silenciamento sináptico.

Existem teorias que assentam num modelo em que este silenciamento tem gênese num momento pré-sináptico, no entanto, outros investigadores assumem um modelo de silenciamento pós-sináptico.

O modelo proposto por Kullman assenta num silenciamento pré-sináptico. Aqui é assumido que uma sinapse silenciosa pode ser descrita como o resultado de um terminal pré-sináptico incapaz¹. Além disso são observadas respostas isoladas de NMDA de sinapses adjacentes perante momentos de excesso de glutamato.

Assim, foi observado que perante a indução de LTP, ocorria uma ligeira potenciação de corrente pós-sináptica excitatória mediada por NMDAr (N-EPSCs) com um aumento correspondente do coeficiente de variação (cv)¹. Foi igualmente descrito que o antagonista do NMDAr, MK-801 bloqueava de forma mais assertiva este recetor perante uma LTP, o que conduz a uma assunção que existe mais glutamato disponível durante LTP.

Após a realização de uma estimulação tetânica presenciou-se uma potenciação da N-EPSCs mesmo perante uma quelação de Ca^{2+} e de uma hiperpolarização da corrente pós-sináptica excitatória mediada por AMPAr (A-EPSC). Foi sugerido que, em resposta a esta estimulação, havia um excedente de glutamato que acabava por transbordar de outras sinapses adjacentes para a sinapse das células observadas.

Outra abordagem levanta a possibilidade de o terminal pré-sináptico estar apenas parcialmente funcional. A libertação do glutamato ocorrerá de forma limitada ou a concentração do próprio neurotransmissor é reduzida. Observou-se que uma concentração de 250 μ M do antagonista dos NMDAr L-AP5 era suficiente para bloquear as N-EPSCs nas sinapses silenciosas³⁹. No entanto, após o emparelhamento, o bloqueio não foi verificado³⁹ sugerindo que após o emparelhamento existe uma maior competição pela ligação com NMDAr entre o antagonista e o glutamato, sendo que este encontra-se em maior concentração, fazendo prevalecer a EPSC.

Outro estudo sugere a ideia de que as sinapses silenciosas resultam de situações de menor libertação de glutamato, e que não só a quantidade, mas também o ritmo a que é feita a sua libertação, que vai ativar os AMPAr¹. Tal foi registado em estudos efetuados em culturas

sujeitas a toxina tetânica durante 1 a 3 horas, em que observou-se um crescimento do número de sinapses silenciosas que exibiam diferentes respostas a iontoforese⁴⁰.

Nos modelos que suportam teorias da LTP pós-sináptica, é sugerido que o silenciamento resulta da ausência de AMPAr pós-sinápticos, em detrimento de problemas ao nível da libertação de glutamato descritas no modelo anterior. Uma demonstração que suporta este modelo utiliza neurónios piramidais de CA3, observou-se um processo de reversão do silenciamento em sinapses silenciosas sujeitas a um protocolo de emparelhamento e de injeção de corrente¹. O processo do aumento da temperatura, envio de impulsos ou de injeção de ciclotiazida não levaram ao aparecimento de A-EPSCs em sinapses silenciosas, mas auxiliaram A-EPSCs em sinapses funcionais, sendo que N-EPSCs permaneceu idêntico antes e depois do emparelhamento. Tais factos sugerem que o processo de reversão do silenciamento não está relacionado com variações na concentração de glutamato nem na velocidade do processo da sua difusão¹.

Outro suporte desta teoria assenta numa experiência realizada numa cultura de células de neurónios que foi elaborada de modo a proporcionar um controlo simultâneo da célula pré e pós-sináptica, que se tornaram alvo de eventos autópticos, conduzindo à ocorrência de apenas N-EPSCs. Sugestiona-se aqui a refutação de qualquer transborde de glutamato já que numa sinapse perfeitamente funcional a A-EPSC deveria sempre ocorrer antes da N-EPSC numa sinapse silenciosa.

Com recurso à técnica *confocal fluorescent imaging* e de registos eletrofisiológicos de neurónios piramidais CA1, pretendeu-se a visualização de *spines* de uma sinapse silenciosa. O Ca^{2+} não foi incorporado no N-EPSCs correspondentes a estimulação pré-sináptica¹. O mesmo ocorreu em resposta a um estímulo tetânico. A explicação para tais eventos coincide na incapacidade da *spine* ser despolarizada o suficiente para desbloquear os canais de Mg^{2+} dos NMDAr, já que ficou demonstrada a sua presença em ambos os eventos.

Atualmente, a opinião mais aceite para a ocorrência de sinapses silenciosas reside em perturbações ao nível dos AMPAr e que para ocorrer o processo de ativação é essencial recrutar AMPAr funcionais para a membrana pós-sináptica de neurónios.

3.2 Detecção de sinapses silenciosas

Nestas sinapses observou-se desde cedo uma disparidade relativa ao número de respostas perante um potencial de repouso com um potencial com despolarização da

membrana^{41,42,43}. Por detrás, decorre uma falta de AMPAR na membrana pós-sináptica, apesar de estarem presentes NMDAR. Esta conjugação indica que esta sinapse está incapaz de exibir uma resposta à estimulação através do neurotransmissor glutamato, já que os NMDAR só exibem resposta na presença de AMPAR, pois sem a presença destes os NMDAR ficam bloqueados devido à presença de Mg^{2+} .

Assim, a elaboração de protocolos eletrofisiológicos com finalidade de identificar sinapses silenciosas baseia-se na observação e comparação dos coeficientes de variação (cv) das amplitudes da EPSC referentes aos AMPAR e NMDAR⁴⁴ (Figura 4). Outro método é focar na receção de sinais exclusivos de sinapses silenciosas ou comparar a taxa de falha referente a potenciais de membrana com uma hiperpolarização (AMPA) ou uma despolarização (NMDA)⁴⁴. Uma elevada taxa de falha nos potenciais hiperpolarizados vai sugerir a presença de uma sinapse silenciosa.

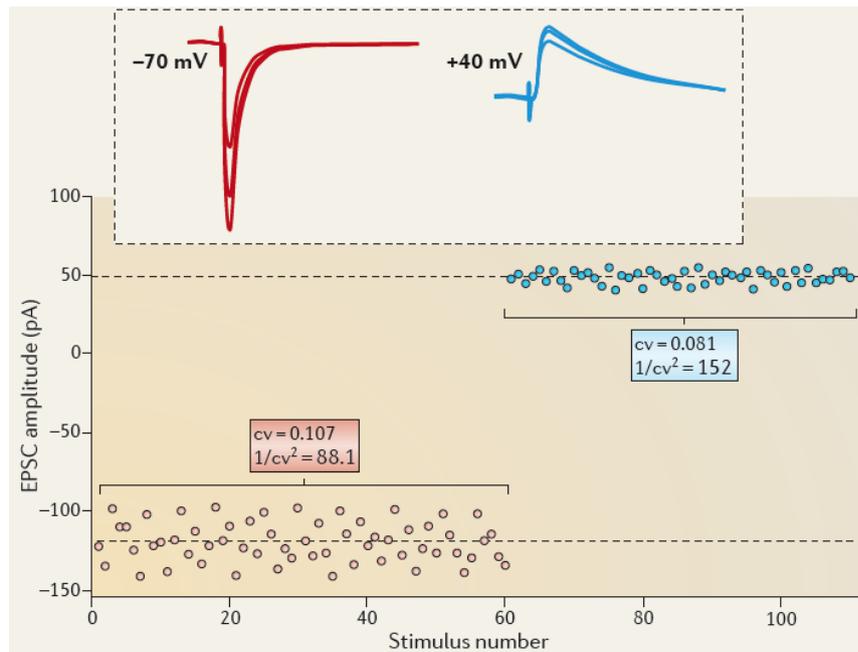


Figura 4- Amplitude de EPSC, adaptado de (44)

Como métodos morfológicos, pode-se recorrer ao uso de anticorpos e de marcadores fluorescentes para avaliar a presença ou ausência de AMPAR e NMDAR. Como marcador pode-se recorrer à sinaptofisina⁴⁵.

3.3 Regulação das sinapses silenciosas

A ativação de uma sinapse silenciosa pode iniciar-se com indução de *long-term potentiation* (LTP) de modo a ativar os AMPAr pós-sinápticos (Figura 5). Em paralelo com uma indução de LTP pré e pós-sináptica, a ativação de NMDAr e um aumento da concentração de Ca^{2+} são igualmente necessários a par da sinalização mediada pelo fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF)⁴⁶. A presença de AMPAr está dependente de uma excitose pós-sináptica eficiente deste recetor^{47,48} tal como uma difusão lateral do mesmo^{49,50}.

Outro método reside numa escassez de alguns minutos de libertação pré-sináptica que vão culminar no recrutamento de AMPAr no terminal pós-sináptico^{51,52,53}. A inatividade de uma sinapse vai reverter o silenciamento, não obstante que este seja apenas transitório. Após ativação da sinapse, verifica-se um novo silenciamento.

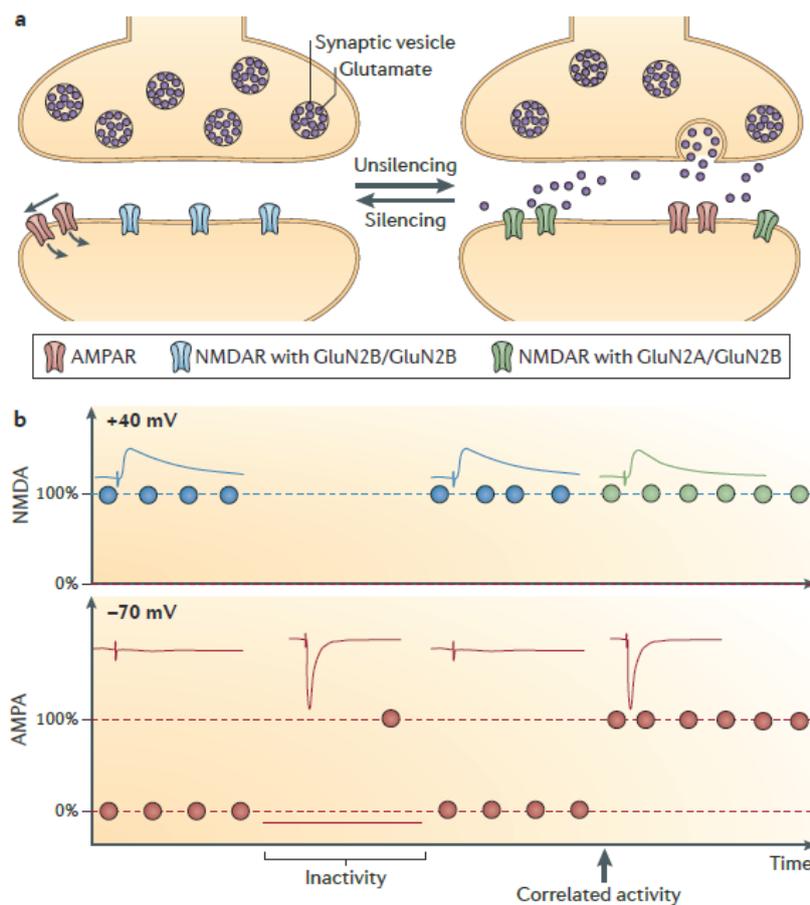


Figura 5- Regulação de sinapses, adaptado de (44). **a**, Processo de silenciamento e reversão com movimento de AMPAr no terminal pós-sináptico. **b**, Reversão do silenciamento pelos processos de inativação e por indução de LTP

3.4 Estabilização/eliminação de sinapses

O número total de sinapses num estado silencioso varia ao longo do tempo devido a estímulos, idade do indivíduo, de facto, apesar de ainda existirem em adultos, as sinapses silenciosas num ser imaturo têm tendência a desaparecer, podendo ser convertidas em sinapses funcionais ou serem sujeitas a um processo de eliminação.

Existem vários fatores que diferenciam uma sinapse glutamatérgica imatura e instável de uma sinapse madura e, por consequência, caracterizada por uma maior estabilidade⁵⁴. A presença de atividade pré e pós-sináptica é importante na estabilização de uma sinapse jovem⁵⁵ que ocorre de forma mais rápida perante a indução de LTP⁵⁶, bem como o consequente recrutamento de AMPAR para a região pós-sináptica que origina uma sinalização no terminal pré-sináptico^{57,58}. Para além dos AMPAR a presença de NMDAR, em particular aqueles que contêm o recetor GluN2A, contribuem de forma significativa para a estabilidade sináptica⁵⁹ devido à menor mobilidade do recetor⁶⁰ e da endocitose menos frequente⁶¹. Um terceiro fator importante na estabilização de sinapses é a presença de *postsynaptic density protein* (PSD e de *scaffolding proteins membrane-associated guanylate kinases* (MAGUK. Têm funções de movimentação e fixação de AMPAR e NMDAR na membrana pós-sináptica⁶². A proteína 102 (SAP102 é altamente expressa no período pós-natal mas posteriormente sofre uma quebra da expressão, ao contrário das proteínas PSD95, PSD93 e SAP97 que presenciam uma expressão mais significativa no seguimento do período pós-natal⁶². Mais importante, observou-se que ao remover PSD95 a proporção de sinapses silenciosas sofria um aumento⁶³ que conduz à conclusão de que têm um papel importante na regulação destas sinapses.

Por sua vez a eliminação segue-se de uma sinalização que tem como alvo as sinapses silenciosas incapazes de sofrerem conversão em sinapses funcionais. Não só perda de AMPAR e NMDAR (Figura 6, mas também a ausência da sua ativação aparenta acelerar o processo de eliminação tal como o *long-term depression* (LTD⁴⁴, sendo que a perda de AMPAR ocorre de forma mais rápida do que de NMDAR⁴⁴. O processo de eliminação que ocorre na doença de Alzheimer como consequência da atividade das placas de β -amilóide é em tudo semelhante a este. As placas oligoméricas vão provocar LTD dependente de NMDAR ao ativar o local de ligação do glutamato na subunidade GluN2B⁶⁴ sendo o processo de eliminação mediado pelo sistema do complemento com ativação da microglia^{65,66}.

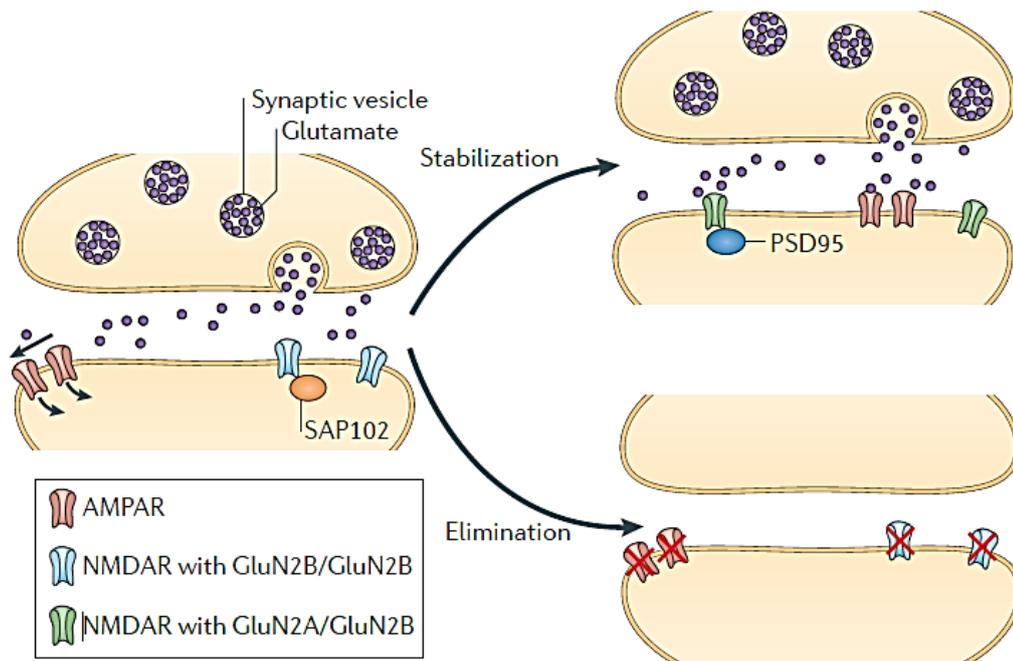


Figura 6- Estabilização e eliminação de sinapses, adaptado de (44)

4 Sinapses e a sua relação com LTD e LTP

As sinapses, estruturas facilmente manipuláveis, sofrem alterações ao longo do tempo como consequência de atividades de aprendizagem e criação de memórias que acabam por moldar o circuito neuronal. De facto, quer a sinapse ou a rede neuronal que as envolve, não são estruturas estanques.

O mecanismo por detrás do silenciamento sináptico, *long-term depression* (LTD) refere-se ao processo em que decorre um decréscimo da resposta aferente de um estímulo pré-sináptico. Estão descritos três tipos de LTD, podendo ser homosináptica, heterosináptica ou pode seguir-se a um momento de LTP. O processo de LTD é precedido por alterações pré e pós-sinápticas sendo que a profundidade destas modificações varia conforme a sinapse em causa e o estado de desenvolvimento do ser estudado⁶⁷. A libertação de glutamato encontra-se reduzida no terminal pré-sináptico em LTD sendo que pode também resultar de um mensageiro retrógrado de cariz pós-sináptico que culmina nessa inibição, sendo um exemplo o óxido nítrico. Os recetores glutamatérgicos, em particular, AMPAR estão em número reduzido devido à sua remoção⁶⁸. No entanto, tal pode igualmente dever-se a alterações na condutância e na consequente reversão da potenciação do recetor⁶⁹.

Este processo pode, no entanto, ser revertido perante a indução de LTP⁴⁴.

O cérebro humano é uma estrutura altamente versátil e adaptável a qualquer situação. Segundo Donald Hebb, perante um estímulo repetitivo entre duas células neuronais, essa ligação sairá fortificada. Assim, uma atividade de repetição ou causalidade entre dois neurónios irá tornar a sinapse existente mais resistente e conseqüentemente mais difícil provocar a sua quebra. Nos trabalhos de Bliss e Lomo 1973 e Levy e Steward 1983, foi postulado que uma ativação repetitiva e praticamente síncrona de ambos os neurónios pré e pós sinápticos produz uma resposta acrescida da conexão estimulada. Este processo ficou mais tarde conhecido por LTP e refere-se efetivamente a um fenómeno de intensa transmissão sináptica resultante de simultânea atividade pré-sináptica e de despolarização pós-sináptica¹ em que na sua origem estará um aumento pré-sináptico da libertação de glutamato⁷⁰ ou um aumento da sensibilidade a esta libertação por parte do terminal pós-sináptico⁷¹. Atualmente acredita-se que o LTP está associado a um aumento de EPSCs mediados por AMPAr (A-EPSCs)^{72,73,74,75}.

A ligação do LTP com as sinapses silenciosas advém de observações em que ocorreu a indução de LTP. Observou-se um aumento do número de sinapses ativas contribuindo para os EPSCs relatados e é a causa do aumento dos locais de libertação de neurotransmissores e dos próprios neurotransmissores.

Já ficou descrito a preponderância que o processo de LTP pode ter na ativação de sinapses que previamente estavam silenciadas, no entanto, não é exclusivo destas, e o LTP também vai ocorrer em sinapses funcionais e este fortalecimento ou enfraquecimentos das conexões sinápticas presentes bem como a criação de novas ou eliminação de sinapses vai determinar o grau de plasticidade sináptica.

De facto, demonstrou-se que, em sinapses não silenciadas e sujeitas a potenciação, não se verificaram alterações em quanta^{76,77}. Tais resultados, parecem afirmar que o LTP provoca o recrutamento de novas sinapses, tornando sinapses silenciosas em sinapses capazes (figura 7). Perante a estimulação de sinapses funcionais resultou um aumento em amplitude de mEPSC, o que sugere a chegada de AMPAr adicionais para a membrana pós-sináptica como ficou demonstrado, perante a libertação de glutamato, que culminou num crescimento em amplitude de A-uEPSC^{78,79,80}. Assim, variações relativas ao número de AMPAr na membrana pós-sináptica estarão na génese de potenciação excitatória quando em número acrescido e em momentos de escassez serão causa de depressão da resposta sináptica.

O movimento de AMPAr tem de facto implicação ao nível da plasticidade sináptica e quando associado a este temos a ativação de NMDAr sendo processos complexos e que envolvem movimento coordenados de variadas moléculas sinalizadoras. De momento parece

correto definir LTP como o principal recrutador de novos AMPAR para sinapses funcionais e silenciosas.

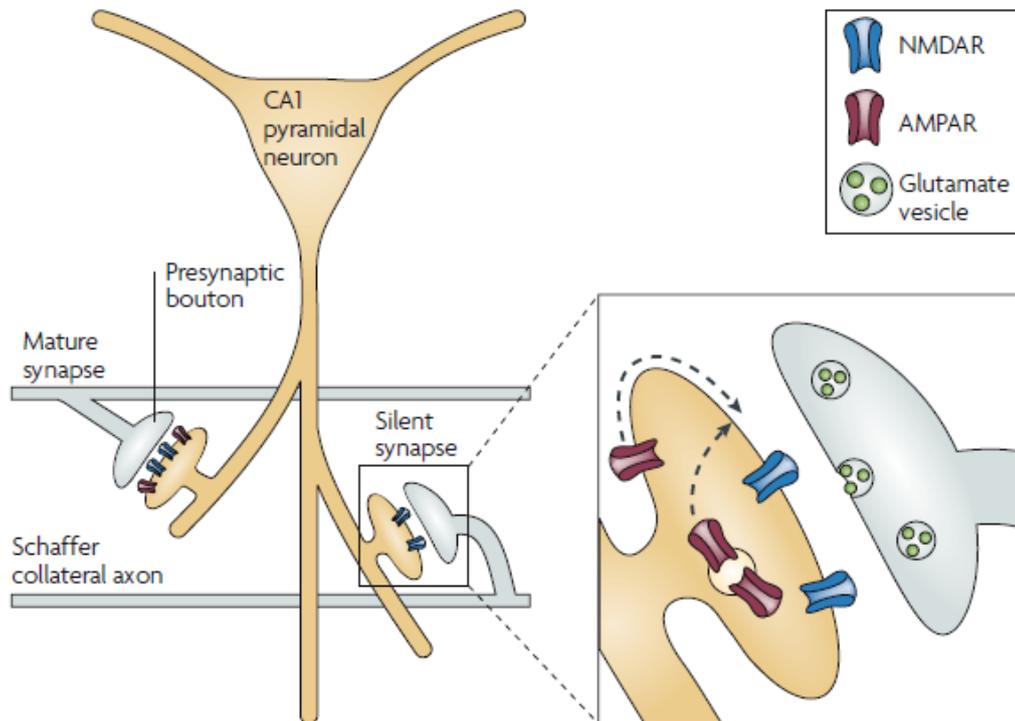


Figura 7- Sinapse silenciosa após indução de LTP, adaptado de (1). À esquerda da figur, encontramos uma sinapse madura com AMPAR e NMDAR, contrariamente à sinapse silenciosa à direita que apenas apresenta NMDAR e por isso é incapaz de responder a um estímulo pré-sináptico com glutamato. É possível também observar a movimentação de AMPAR para o terminal pós-sináptico na sinapse silenciosa devido a um processo de LTP.

5 Movimentação de AMPAR no terminal pós-sináptico

A presença de AMPAR no terminal pós-sináptico está dependente da atividade dessa sinapse e o número de recetores encontra-se intimamente ligada com os mecanismos de plasticidade sináptica particularmente LTP e LTD⁸¹ como é possível observar na Figura 8. Estes recetores apresentam elevada mobilidade, e o seu recrutamento surge numa necessidade fisiológica que é observada nestes processos de plasticidade sináptica. Perante LTD é observado a endocitose de AMPAR presentes à superfície do terminal pós-sináptico como resultado de uma cascata de sinalização intracelular que envolve calcineurinas e a proteína fosfatase I (PPI)⁴⁹. Esta endocitose também é observada de forma constitutiva como processo de reciclagem deste recetor⁴⁹.

Perante a indução de LTP ocorre uma acréscimo do processo de exocitose no terminal pós-sináptico e uma difusão dos AMPAR laterais para a zona da sinapse onde a PSD MAGUK tem ação na difusão e ancoragem destes recetores⁵⁰.

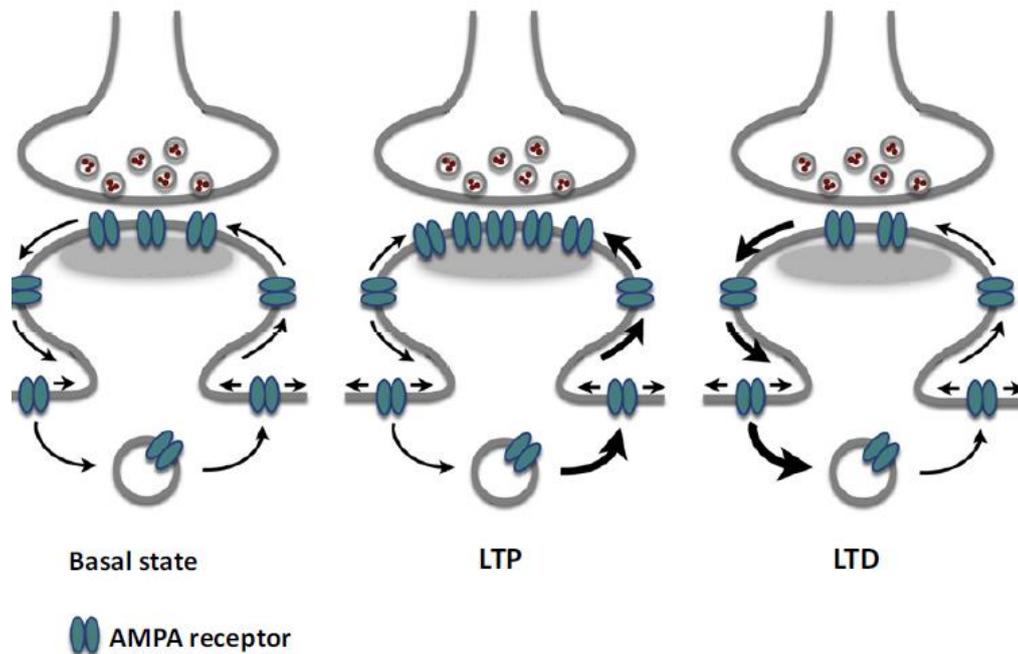


Figura 8- Movimento de AMPAr perante a indução de LTP ou LTD, adaptado de (81)

6 Disfunção da transmissão glutamatérgica: a sua relação com sinapses e doenças neurodegenerativas

Com o aumento da esperança de vida, o desempenho cognitivo decresce e o desenvolvimento de doenças de cariz neurodegenerativo, em particular aquelas intimamente ligadas com a idade, tornaram-se mais comuns. A sinapse, devido à polarização inerente aos neurónios, é das estruturas mais frágeis do ser humano e por essa razão está vulnerável a alterações. Nestas doenças, o declínio cognitivo acelerado não é necessariamente o resultado de uma diminuição quantitativa de sinapses por si só ou uma neurogénese deficiente ou ainda uma plasticidade neuronal reduzida, por outro lado parece que os mecanismos por detrás da manutenção do bem-estar cognitivo vão tornando-se menos eficientes com o avançar da idade e originam todas estas alterações.

Na génese destas patologias parecem estar disfunções no transporte de glutamato na fenda sináptica, ocorrendo momentos de excitotoxicidade em que a concentração de glutamato é demasiado elevada. Apesar de ser o principal mediador excitatório do SNC, o glutamato é tóxico. De seguida irão ser abordados algumas dos distúrbios neurodegenerativos mais comuns.

Na doença de Parkinson o efeito excitotóxico do glutamato é notório. A nível fisiopatológico observa-se a acumulação de corpos de Lewey e uma degeneração progressiva

de neurónios dopaminérgicos nigroestriatais que conduz à disfunção motora característica da doença. Sintomatologia como tremores, bradicinesia e rigidez muscular podem resultar da excessiva ativação dos recetores glutamatérgicos que por sua vez contribuem para a excitotoxicidade e morte de neurónios nigroestriatais⁸². Condições de indução de um estado de parkinsonismo através do uso de neurotoxinas como a 6-hidroxidopamina (6-OHDA), rotenona e N-metil-4-fenil-pyridinium (MPTP) resultaram num decréscimo da recaptação de glutamato em células PC12⁸³.

A esclerose lateral amiotrófica (ALS) manifesta-se através de uma progressiva perda de neurónios motores na medula espinal, no tronco cerebral e ainda no córtex motor. Esta degeneração pode ou não ter causa genética e está intimamente ligada a uma disfunção no transporte de glutamato, observando-se elevados níveis deste neurotransmissor no fluido cérebroespinal resultantes de uma menor expressão das proteínas transportadoras EAAT2. Num doente de ALS, a atividade deste transportador é apenas 33% em comparação com o padrão de atividade sugerindo ainda que estes existem em pequena quantidade⁸².

A doença de Alzheimer tem cariz irreversível e pode definir-se como uma patologia neurodegenerativa progressiva e crónica e que tem nas regiões do córtex cerebral e no hipocampo as principais áreas danificadas. Um cérebro sujeito a doença de Alzheimer vai sofrer uma deterioração progressiva e irremediável com conseqüente morte de neurónios⁸⁴. No parâmetro macroscópico é possível visualizar uma degeneração acelerada na região constituinte do hipocampo e também do córtex cerebral, uma acumulação de líquido cefalorraquidiano e igualmente uma hipertrofia ventricular. Por detrás destas alterações estarão múltiplas mutações genéticas na proteína precursora amilóide (PPA) e nas proteínas presenilina 1 e 2 que culmina na clivagem da PPA no péptido β -amilóide que se vão acumular. A agregação de micotúbulos de proteína tau hiperfosforilada é outra alteração. No entanto esta acumulação não é uniforme, a acumulação dos fragmentos da proteína $A\beta$ vai ocorrer na parte extracelular dos neurónios ao invés que a acumulação da proteína tau vai culminar na parte intracelular. Todas estas alterações vão sendo acompanhadas por um processo inflamatório propiciado por astrócitos e microglia. Tal como na doença de Parkinson, um dos planos terapêuticos passa pela toma de memantina, um antagonista NMDA, indicando que bloqueadores dos recetores glutamatérgicos ou fármacos com potencial de aumentar a recaptação de glutamato tem benefício nestas terapêuticas.

Na doença de Alzheimer ocorre uma redução da expressão do transportador de glutamato e um conseqüente decréscimo da sua recaptação. No trabalho de Zoia demonstrou-

se que apesar de ser algo normal que a expressão destes transportadores seja menor com o avançar da idade, numa situação neurodegenerativa tal ocorre mais rapidamente^{85,86}. Em comparação com um controlo jovem, observou-se uma menor recaptação de glutamato e uma expressão menor do transportador EAAT1 em fibroblastos e em pacientes de Alzheimer existe menor expressão deste transportador e simultâneo inferior recaptação de glutamato sugerindo a associação da escassez de EAAT1 e uma clearance deficiente de glutamato contribuem para neurodegeneração e por consequência a doença de Alzheimer^{87,85,86}. Keller sugere também uma ligação relativa à inibição da recaptação de glutamato devido às placas de β -Amiloide^{88,89}. A proteína tau produzida em ratos transgênicos pelo promotor *glial fibrillary acidic protein* (GFAP) fez diminuir a produção de proteínas como GLT-1 e GLAST, importantes para a atividade dos transportadores de glutamato.

7 Modulação das sinapses silenciosas e o seu impacto nas doenças neurodegenerativas

Associadas às doenças neurodegenerativas em particular na Alzheimer estão perturbações no transporte de glutamato, em particular nos seus transportadores. A desregulação destes pode ter as mais variadas origens. As sinapses silenciosas e a sua regulação têm estados implicadas em várias patologias neurológicas, em particular em doenças neurodegenerativas. Em sinapses excitatórias originadas num adulto observa-se a falta de AMPAR necessários para a neurotransmissão, resultando em sinapses silenciosas³⁷. Este processo não é estanque e devido à elevada plasticidade neuronal, ocorre frequentemente a conversão de sinapse funcional em silenciosa, ocorrendo também o inverso.

A regulação pode tornar-se patológica perante uma excessiva e indiscriminada reversão do silenciamento. Este processo pode originar uma reorganização aberrante associado a patologias como a adição e a certas lesões cerebrais, e o silenciamento de sinapses funcionais conduz à perda de sinapses a que associamos nas doenças neurodegenerativas⁴⁴ (Figura 9). Em doenças como a adição pode-se assistir a uma criação de sinapses funcionais onde existia previamente sinapses silenciosas, isto em resultado de uma estimulação. O número de sinapses funcionais mantém-se inalterável, no entanto o potencial de criar novas conexões relacionadas com a atividade é maior⁴⁴.

Em doenças neurodegenerativas, em particular na doença de Alzheimer observa-se a perda de sinapses³⁷ de forma drástica e severa e no seguimento, ocorre o impedimento da ocorrência de LTP, ao invés decorre o fenómeno inverso, LTD. De facto, na doença de

Alzheimer ocorre perda de NMDAr^{90,91} e de AMPAr^{90,92} nas sinapses tornando-as silenciosas e por sua vez pouco úteis. Este silenciamento será consequência dos efeitos sinaptotóxicos exercidos pelas placas β -amilóides que tem o potencial de ativar recetores metabotrópicos NMDAr contendo GluN2B que podem induzir LTD⁶⁴. Ao ser induzido este estado de LTD é muito improvável que estas sinapses silenciosas se tornem funcionais novamente através do novo recrutamento de AMPAr⁶⁷.

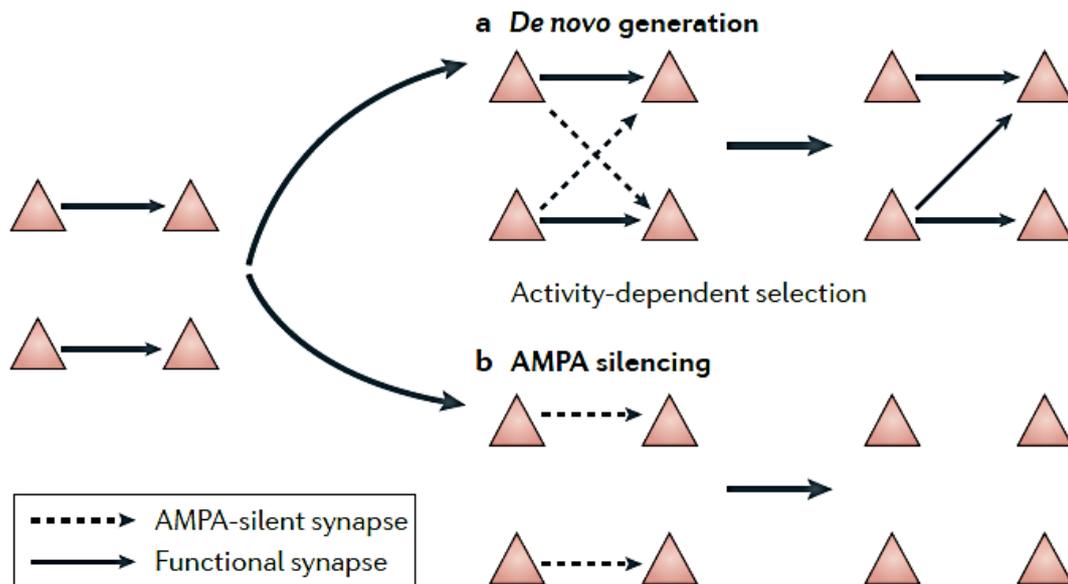


Figura 9- Ativação de sinapses silenciosas, adaptado de (44). **a**, Em patologias como a adição, são ativadas sinapses que nunca foram anteriormente ativadas. **b**, Na doença de Alzheimer, verifica-se o silenciamento de sinapses previamente funcionais.

8 Conclusão e perspectivas futuras

A transmissão de informação por meio de sinapses, é algo facilmente modulado e as sinapses, em particular as menos estáveis, sofrem alterações com alguma regularidade consoante a ação ou a sua ausência de estímulos. O glutamato e todos os processos a si associados têm um papel importante no equilíbrio de toda a rede das sinapses, sabendo que perturbações nas concentrações deste aminoácido podem ser muito prejudiciais.

A presença de sinapses silenciosas encontra-se de facto por detrás das mais diversas patologias neurológicas, juntamente com perturbações no mecanismo de transporte de glutamato. O fenómeno da excitotoxicidade e os radicais livres formados durante o processo são causadores de danos a nível cerebral.

As sinapses recentemente formadas, carecem de respostas excitatórias derivadas da presença de glutamato na fenda sináptica e mediadas por AMPAr, sendo esta sua descoberta determinante na compreensão destas patologias e a sua presença em abundância em seres adultos desafia o conhecimento adquirido até recentemente. Perante a imensidão da presença de sinapses silenciosas, tal demonstra um potencial sináptico desconhecido e um vasto terreno por explorar, pois de facto a percentagem de sinapses funcionais num dado momento não é tão elevado quanto o estimado. A plasticidade neuronal em resultado a este fenómeno é imensa já que possibilita o estabelecimento de novos circuitos sinápticos. Os modelos de criação e consolidação de memória baseados na premissa de que a formação de memórias encontra-se intimamente ligada com a flexibilidade na aquisição e estabilidade na consolidação, suportam a ideia de que sinapses funcionais serão importantes para o armazenamento de informação e a sua retenção, sendo a ativação das sinapses silenciosas determinante para a rápida aquisição de nova informação³⁷.

Há, portanto, muitas sinapses inativas, que são silenciosas, umas não devem ser revertidas para evitar algumas patologias e a adição, sendo que a ativação das sinapses silenciosas pode ser importante na neurodegeneração, em particular na doença de Alzheimer onde se pensa que as placas β -amilóide tornam a reversão de sinapses silenciosas impossível. No entanto, este efeito irreversível carece de maior esclarecimento. De facto, demonstrou-se ser viável a nova ativação de sinapses previamente silenciosas noutras situações. Até à pouco tempo, a ocorrência de sinapses silenciosas era dado como exclusivo de seres jovens, algo desmentido recentemente³⁷, por isso a influência das placas oligoméricas deverá ser alvo de maior investigação pois a reversão do silenciamento não é impossível como demonstra um estudo que teve como alvo a subunidade mGluR5⁹³.

A ativação de sinapses silenciosas tem potencial terapêutico podendo ser importante para a reversão da morte de sinapses observada nas doenças neurodegenerativas.

9 Bibliografia

1. KERCHNER, Geoffrey A.; NICOLL, Roger A. - Silent synapses and the emergence of a postsynaptic mechanism for LTP. **Nature Reviews Neuroscience**. ISSN 1471003X. 9:11 (2008) 813–825. doi: 10.1038/nrn2501.
2. SÜDHOF, Thomas C. - The cell biology of synapse formation. **Journal of Cell Biology**. ISSN 15408140. 220:7 (2021) 1–18. doi: 10.1083/jcb.202103052.
3. SAUNDERS, Arpiar *et al.* - Molecular Diversity and Specializations among the Cells of the Adult Mouse Brain. **Cell**. ISSN 10974172. 174:4 (2018) 1015-1030.e16. doi: 10.1016/j.cell.2018.07.028.
4. ZEISEL, Amit *et al.* - Molecular Architecture of the Mouse Nervous System. **Cell**. ISSN 10974172. 174:4 (2018) 999-1014.e22. doi: 10.1016/j.cell.2018.06.021.
5. ROOT, David H. *et al.* - Single rodent mesohabenular axons release glutamate and GABA. **Nature Neuroscience**. ISSN 15461726. 17:11 (2014) 1543–1551. doi: 10.1038/nn.3823.
6. ROOT, David H. *et al.* - Selective Brain Distribution and Distinctive Synaptic Architecture of Dual Glutamatergic-GABAergic Neurons. **Cell Reports**. ISSN 22111247. 23:12 (2018) 3465–3479. doi: 10.1016/j.celrep.2018.05.063.
7. TAKÁCS, Virág T. *et al.* - Co-transmission of acetylcholine and GABA regulates hippocampal states. **Nature Communications**. ISSN 20411723. 9:1 (2018). doi: 10.1038/s41467-018-05136-1.
8. MAHER, Brady J.; WESTBROOK, Gary L. - Co-transmission of dopamine and GABA in periglomerular cells. **Journal of Neurophysiology**. ISSN 00223077. 99:3 (2008) 1559–1564. doi: 10.1152/jn.00636.2007.
9. MOORE, Niall J. *et al.* - Synaptic connectivity between renshaw cells and motoneurons in the recurrent inhibitory circuit of the spinal cord. **Journal of Neuroscience**. ISSN 15292401. 35:40 (2015) 13673–13686. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2541-15.2015.
10. LAMOTTE D'INCAMPS, Boris *et al.* - Segregation of glutamatergic and cholinergic transmission at the mixed motoneuron Renshaw cell synapse. **Scientific Reports**. ISSN 20452322. 7:1 (2017) 1–17. doi: 10.1038/s41598-017-04266-8.
11. SULZER, David *et al.* - Dopamine neurons make glutamatergic synapses in vitro. **Journal of Neuroscience**. ISSN 02706474. 18:12 (1998) 4588–4602. doi: 10.1523/jneurosci.18-12-04588.1998.

12. STUBER, Garret D. *et al.* - Dopaminergic terminals in the nucleus accumbens but not the dorsal striatum corelease glutamate. **Journal of Neuroscience**. ISSN 02706474. 30:24 (2010) 8229–8233. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1754-10.2010.
13. JONAS, Peter - Glutamate Receptors in the Central Nervous System (1993).
14. SCHOUSBOE, A. - Transport and metabolism of glutamate and GABA in neurons are glial cells. **International review of neurobiology**. United States. ISSN 0074-7742 (Print). 22:1981) 1–45. doi: 10.1016/s0074-7742(08)60289-5.
15. LEHMANN, A.; ISACSSON, H.; HAMBERGER, A. - Effects of in vivo administration of kainic acid on the extracellular amino acid pool in the rabbit hippocampus. **Journal of neurochemistry**. England. ISSN 0022-3042 (Print). 40:5 (1983) 1314–1320. doi: 10.1111/j.1471-4159.1983.tb13572.x.
16. HAMBERGER, A.; NYSTRÖM, B. - Extra- and intracellular amino acids in the hippocampus during development of hepatic encephalopathy. **Neurochemical research**. United States. ISSN 0364-3190 (Print). 9:9 (1984) 1181–1192. doi: 10.1007/BF00973033.
17. HERTZ, Leif - Glutamate , a neurotransmitter — And so much more A synopsis of Wierzba III. 48:2006) 416–425. doi: 10.1016/j.neuint.2005.12.021.
18. DAISLEY, Jonathan N. *et al.* - Passive avoidance training and recall are associated with increased glutamate levels in the intermediate medial hyperstriatum ventrale of the day-old chick. **Neural Plasticity**. ISSN 20905904. 6:3 (1998) 53–61. doi: 10.1155/NP.1998.53.
19. DAISLEY, Jonathan N.; ROSE, Steven P. R. - Amino acid release from the intermediate medial hyperstriatum ventrale (IMHV) of day-old chicks following a one-trial passive avoidance task. **Neurobiology of Learning and Memory**. ISSN 10747427. 77:2 (2002) 185–201. doi: 10.1006/nlme.2001.4011.
20. NG, K. T. *et al.* - Complex roles of glutamate in the Gibbs-Ng model of one-trial aversive learning in the new-born chick. **Neuroscience and biobehavioral reviews**. United States. ISSN 0149-7634 (Print). 21:1 (1997) 45–54. doi: 10.1016/0149-7634(95)00079-8.
21. TANG, C. M.; DICHTER, M.; MORAD, M. - Quisqualate activates a rapidly inactivating high conductance ionic channel in hippocampal neurons. **Science (New York, N.Y.)**. United States. ISSN 0036-8075 (Print). 243:4897 (1989) 1474–1477. doi: 10.1126/science.2467378.
22. DÍAZ-ALONSO, Javier; NICOLL, Roger A. - AMPA receptor trafficking and LTP: Carboxy-termini, amino-termini and TARPs. **Neuropharmacology**. ISSN 18737064. 197:2021) 108710. doi: 10.1016/j.neuropharm.2021.108710.

23. LU, Wei *et al.* - Subunit composition of synaptic AMPA receptors revealed by a single-cell genetic approach. **Neuron**. United States. ISSN 1097-4199 (Electronic). 62:2 (2009) 254–268. doi: 10.1016/j.neuron.2009.02.027.
24. HENLEY, Jeremy M.; WILKINSON, Kevin A. - Synaptic AMPA receptor composition in development, plasticity and disease. **Nature reviews. Neuroscience**. England. ISSN 1471-0048 (Electronic). 17:6 (2016) 337–350. doi: 10.1038/nrn.2016.37.
25. BUTCHER, Steven P.; HAMBERGER, Anders - In Vivo Studies on the Extracellular, and Veratrine-Releasable, Pools of Endogenous Amino Acids in the Rat Striatum: Effects of Corticostriatal Deafferentation and Kainic Acid Lesion. **Journal of Neurochemistry**. ISSN 14714159. 48:3 (1987) 713–721. doi: 10.1111/j.1471-4159.1987.tb05575.x.
26. MELDRUM, B.; GARTHWAITE, J. - Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. **Trends in pharmacological sciences**. England. ISSN 0165-6147 (Print). 11:9 (1990) 379–387. doi: 10.1016/0165-6147(90)90184-a.
27. CHOI, Dennis W. - Excitotoxic cell death. **Journal of Neurobiology**. ISSN 10974695. 23:9 (1992) 1261–1276. doi: 10.1002/neu.480230915.
28. SIMPSON, J. R.; ISACSON, O. - Mitochondrial impairment reduces the threshold for in vivo NMDA-mediated neuronal death in the striatum. **Experimental neurology**. United States. ISSN 0014-4886 (Print). 121:1 (1993) 57–64. doi: 10.1006/exnr.1993.1071.
29. KELLEHER, J. A. *et al.* - Modification of hypoxia-induced injury in cultured rat astrocytes by high levels of glucose. **Stroke**. United States. ISSN 0039-2499 (Print). 24:6 (1993) 855–863. doi: 10.1161/01.str.24.6.855.
30. BONDY, S. C.; LEE, D. K. - Oxidative stress induced by glutamate receptor agonists. **Brain research**. Netherlands. ISSN 0006-8993 (Print). 610:2 (1993) 229–233. doi: 10.1016/0006-8993(93)91405-h.
31. KIMELBERG, H. K. - Current concepts of brain edema. Review of laboratory investigations. **Journal of neurosurgery**. United States. ISSN 0022-3085 (Print). 83:6 (1995) 1051–1059. doi: 10.3171/jns.1995.83.6.1051.
32. GRAS, Christelle *et al.* - A third vesicular glutamate transporter expressed by cholinergic and serotonergic neurons. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**. United States. ISSN 1529-2401 (Electronic). 22:13 (2002) 5442–5451. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-13-05442.2002.
33. RUGGIERO, Rafael N. *et al.* - Neurotransmissão glutamatérgica e plasticidade sináptica:

- Aspectos moleculares, clínicos e filogenéticos. **Medicina**. ISSN 00766046. 44:2 (2011) 127–140. doi: 10.11606/issn.2176-7262.v44i2p143-156.
34. DANBOLT, Niels C. - Glutamate uptake. 65:2001) 1–105.
35. ATWOOD, Harold L.; WOJTOWICZ, J. Martin - Silent Synapses in Neural Plasticity: [s.d.] 542–572.
36. DEAN, Paul *et al.* - The cerebellar microcircuit as an adaptive filter: experimental and computational evidence. **Nature reviews. Neuroscience**. England. ISSN 1471-0048 (Electronic). 11:1 (2010) 30–43. doi: 10.1038/nrn2756.
37. VARDALAKI, Dimitra; CHUNG, Kwanghun; HARNETT, Mark T. - Filopodia are a structural substrate for silent synapses in adult neocortex. 612:July 2021 (2022). doi: 10.1038/s41586-022-05483-6.
38. PARK, Joha *et al.* - Epitope-preserving magnified analysis of proteome (eMAP). **Science advances**. United States. ISSN 2375-2548 (Electronic). 7:46 (2021) eabf6589. doi: 10.1126/sciadv.abf6589.
39. CHOI, S.; KLINGAUF, J.; TSIEN, R. W. - Postfusional regulation of cleft glutamate concentration during LTP at «silent synapses». **Nature neuroscience**. United States. ISSN 1097-6256 (Print). 3:4 (2000) 330–336. doi: 10.1038/73895.
40. RENGER, J. J.; EGLES, C.; LIU, G. - A developmental switch in neurotransmitter flux enhances synaptic efficacy by affecting AMPA receptor activation. **Neuron**. United States. ISSN 0896-6273 (Print). 29:2 (2001) 469–484. doi: 10.1016/s0896-6273(01)00219-7.
41. DURAND, Guylaine M.; KOVALCHUK, Yury; KONNERTH, Arthur - Long-term potentiation and functional synapse induction in developing hippocampus. **Nature**. ISSN 00280836. 381:6577 (1996) 71–75. doi: 10.1038/381071a0.
42. LIAO, D.; SCANNEVIN, R. H.; HUGANIR, R. - Activation of silent synapses by rapid activity-dependent synaptic recruitment of AMPA receptors. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**. United States. ISSN 1529-2401 (Electronic). 21:16 (2001) 6008–6017. doi: 10.1523/JNEUROSCI.21-16-06008.2001.
43. ISAAC, J. T.; NICOLL, R. A.; MALENKA, R. C. - Evidence for silent synapses: implications for the expression of LTP. **Neuron**. United States. ISSN 0896-6273 (Print). 15:2 (1995) 427–434. doi: 10.1016/0896-6273(95)90046-2.

44. HANSE, Eric; SETH, Henrik; RIEBE, Ilse - AMPA-silent synapses in brain development and pathology. **Nature Reviews Neuroscience**. ISSN 1471003X. 14:12 (2013) 839–850. doi: 10.1038/nrn3642.
45. GOMPERTS, Stephen N. *et al.* - Postsynaptically silent synapses in single neuron cultures. **Neuron**. ISSN 08966273. 21:6 (1998) 1443–1451. doi: 10.1016/S0896-6273(00)80662-5.
46. MINICHIELLO, Liliana - TrkB signalling pathways in LTP and learning. **Nature reviews. Neuroscience**. England. ISSN 1471-0048 (Electronic). 10:12 (2009) 850–860. doi: 10.1038/nrn2738.
47. JURADO, Sandra *et al.* - LTP requires a unique postsynaptic SNARE fusion machinery. **Neuron**. United States. ISSN 1097-4199 (Electronic). 77:3 (2013) 542–558. doi: 10.1016/j.neuron.2012.11.029.
48. LLEDO, P. M. *et al.* - Postsynaptic membrane fusion and long-term potentiation. **Science (New York, N.Y.)**. United States. ISSN 0036-8075 (Print). 279:5349 (1998) 399–403. doi: 10.1126/science.279.5349.399.
49. MALINOW, Roberto; MALENKA, Robert C. - AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. **Annual Review of Neuroscience**. ISSN 0147006X. 25:2002) 103–126. doi: 10.1146/annurev.neuro.25.112701.142758.
50. OPAZO, Patricio; SAINLOS, Matthieu; CHOQUET, Daniel - Regulation of AMPA receptor surface diffusion by PSD-95 slots. **Current Opinion in Neurobiology**. ISSN 09594388. 22:3 (2012) 453–460. doi: 10.1016/j.conb.2011.10.010.
51. ABRAHAMSSON, Therése; GUSTAFSSON, Bengt; HANSE, Eric - Reversible synaptic depression in developing rat CA3-CA1 synapses explained by a novel cycle of AMPA silencing-unsilencing. **Journal of Neurophysiology**. ISSN 00223077. 98:5 (2007) 2604–2611. doi: 10.1152/jn.00602.2007.
52. STRANDBERG, Joakim; WASLING, Pontus; GUSTAFSSON, Bengt - Modulation of low-frequency-induced synaptic depression in the developing CA3-CA1 hippocampal synapses by NMDA and metabotropic glutamate receptor activation. **Journal of neurophysiology**. United States. ISSN 0022-3077 (Print). 101:5 (2009) 2252–2262. doi: 10.1152/jn.91210.2008.
53. WASLING, Pontus; STRANDBERG, Joakim; HANSE, Eric - AMPA receptor activation causes silencing of AMPA receptor-mediated synaptic transmission in the developing hippocampus. **PloS one**. United States. ISSN 1932-6203 (Electronic). 7:4 (2012) e34474. doi: 10.1371/journal.pone.0034474.

54. PETRALIA, Ronald S. *et al.* - Ontogeny of postsynaptic density proteins at glutamatergic synapses. **Molecular and cellular neurosciences**. United States. ISSN 1044-7431 (Print). 29:3 (2005) 436–452. doi: 10.1016/j.mcn.2005.03.013.
55. KATZ, L. C.; SHATZ, C. J. - Synaptic activity and the construction of cortical circuits. **Science (New York, N.Y.)**. United States. ISSN 0036-8075 (Print). 274:5290 (1996) 1133–1138. doi: 10.1126/science.274.5290.1133.
56. HILL, Travis C.; ZITO, Karen - LTP-induced long-term stabilization of individual nascent dendritic spines. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**. United States. ISSN 1529-2401 (Electronic). 33:2 (2013) 678–686. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1404-12.2013.
57. RIPLEY, Beth *et al.* - Regulation of synaptic stability by AMPA receptor reverse signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. United States. ISSN 1091-6490 (Electronic). 108:1 (2011) 367–372. doi: 10.1073/pnas.1015163108.
58. TRACY, Tara E.; YAN, Jenny J.; CHEN, Lu - Acute knockdown of AMPA receptors reveals a trans-synaptic signal for presynaptic maturation. **The EMBO journal**. England. ISSN 1460-2075 (Electronic). 30:8 (2011) 1577–1592. doi: 10.1038/emboj.2011.59.
59. GROG, L.; BARD, L.; CHOQUET, D. - Surface trafficking of N-methyl-D-aspartate receptors: physiological and pathological perspectives. **Neuroscience**. United States. ISSN 0306-4522 (Print). 158:1 (2009) 4–18. doi: 10.1016/j.neuroscience.2008.05.029.
60. GROG, Laurent *et al.* - NMDA receptor surface mobility depends on NR2A-2B subunits. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. United States. ISSN 0027-8424 (Print). 103:49 (2006) 18769–18774. doi: 10.1073/pnas.0605238103.
61. LAVEZZARI, Gabriela *et al.* - Subunit-specific regulation of NMDA receptor endocytosis. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**. United States. ISSN 1529-2401 (Electronic). 24:28 (2004) 6383–6391. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1890-04.2004.
62. ZHENG, Chan-Ying *et al.* - MAGUKs, synaptic development, and synaptic plasticity. **The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry**. United States. ISSN 1089-4098 (Electronic). 17:5 (2011) 493–512. doi: 10.1177/1073858410386384.

63. BÉIQUÉ, Jean-Claude *et al.* - Synapse-specific regulation of AMPA receptor function by PSD-95. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. United States. ISSN 0027-8424 (Print). 103:51 (2006) 19535–19540. doi: 10.1073/pnas.0608492103.
64. KESSELS, Helmut W.; NABAVI, Sadegh; MALINOW, Roberto - Metabotropic NMDA receptor function is required for β -amyloid-induced synaptic depression. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. ISSN 00278424. 110:10 (2013) 4033–4038. doi: 10.1073/pnas.1219605110.
65. CLARKE, Laura E.; BARRES, Ben A. - Emerging roles of astrocytes in neural circuit development. **Nature reviews. Neuroscience**. England. ISSN 1471-0048 (Electronic). 14:5 (2013) 311–321. doi: 10.1038/nrn3484.
66. KETTENMANN, Helmut; KIRCHHOFF, Frank; VERKHRATSKY, Alexei - Microglia: new roles for the synaptic stripper. **Neuron**. United States. ISSN 1097-4199 (Electronic). 77:1 (2013) 10–18. doi: 10.1016/j.neuron.2012.12.023.
67. COLLINGRIDGE, Graham L. *et al.* - Long-term depression in the CNS. **Nature Reviews Neuroscience**. ISSN 1471003X. 11:7 (2010) 459–473. doi: 10.1038/nrn2867.
68. COLLINGRIDGE, Graham L.; ISAAC, John T. R.; WANG, Yu Tian - Receptor trafficking and synaptic plasticity. **Nature reviews. Neuroscience**. England. ISSN 1471-003X (Print). 5:12 (2004) 952–962. doi: 10.1038/nrn1556.
69. LÜTHI, Andreas *et al.* - Bi-directional modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity. **BMC neuroscience**. England. ISSN 1471-2202 (Electronic). 5:2004) 44. doi: 10.1186/1471-2202-5-44.
70. STEVENS, C. F. - Quantal release of neurotransmitter and long-term potentiation. **Neuron**. ISSN 08966273. 10:SUPPL. REV. (1993) 55–63.
71. NICOLL, R. A.; MALENKA, R. C. - Contrasting properties of two forms of long-term potentiation in the hippocampus. **Nature**. England. ISSN 0028-0836 (Print). 377:6545 (1995) 115–118. doi: 10.1038/377115a0.
72. KAUER, J. A.; MALENKA, R. C.; NICOLL, R. A. - A persistent postsynaptic modification mediates long-term potentiation in the hippocampus. **Neuron**. United States. ISSN 0896-6273 (Print). 1:10 (1988) 911–917. doi: 10.1016/0896-6273(88)90148-1.
73. MULLER, D.; JOLY, M.; LYNCH, G. - Contributions of quisqualate and NMDA receptors to the induction and expression of LTP. **Science (New York, N.Y.)**. United States. ISSN

0036-8075 (Print). 242:4886 (1988) 1694–1697. doi: 10.1126/science.2904701.

74. MULLER, D.; LYNCH, G. - Long-term potentiation differentially affects two components of synaptic responses in hippocampus. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. United States. ISSN 0027-8424 (Print). 85:23 (1988) 9346–9350. doi: 10.1073/pnas.85.23.9346.

75. KULLMANN, D. M. - Amplitude fluctuations of dual-component EPSCs in hippocampal pyramidal cells: implications for long-term potentiation. **Neuron**. United States. ISSN 0896-6273 (Print). 12:5 (1994) 1111–1120. doi: 10.1016/0896-6273(94)90318-2.

76. BOLSHAKOV, V. Y.; SIEGELBAUM, S. A. - Regulation of hippocampal transmitter release during development and long-term potentiation. **Science (New York, N.Y.)**. United States. ISSN 0036-8075 (Print). 269:5231 (1995) 1730–1734. doi: 10.1126/science.7569903.

77. STEVENS, C. F.; WANG, Y. - Changes in reliability of synaptic function as a mechanism for plasticity. **Nature**. England. ISSN 0028-0836 (Print). 371:6499 (1994) 704–707. doi: 10.1038/371704a0.

78. BAGAL, Ashish A. *et al.* - Long-term potentiation of exogenous glutamate responses at single dendritic spines. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. United States. ISSN 0027-8424 (Print). 102:40 (2005) 14434–14439. doi: 10.1073/pnas.0501956102.

79. HARVEY, Christopher D.; SVOBODA, Karel - Locally dynamic synaptic learning rules in pyramidal neuron dendrites. **Nature**. England. ISSN 1476-4687 (Electronic). 450:7173 (2007) 1195–1200. doi: 10.1038/nature06416.

80. MATSUZAKI, Masanori *et al.* - Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. **Nature**. England. ISSN 1476-4687 (Electronic). 429:6993 (2004) 761–766. doi: 10.1038/nature02617.

81. HASTINGS, Margaret H.; MAN, Heng-Ye - Science & Society Synaptic Capture of Laterally Diffusing AMPA Receptors – An Idea That Stuck. **Trends in Neurosciences**. ISSN 0166-2236. 41:6 (2018) 330–332. doi: 10.1016/j.tins.2018.03.016.

82. SHELDON, Amanda L.; ROBINSON, Michael B. - The role of glutamate transporters in neurodegenerative diseases and potential opportunities for intervention. 51:2007) 333–355. doi: 10.1016/j.neuint.2007.03.012.

83. YANG, Yan-Ling *et al.* - Iptakalim hydrochloride protects cells against neurotoxin-induced glutamate transporter dysfunction in in vitro and in vivo models. **Brain research**.

Netherlands. ISSN 0006-8993 (Print). 1049:1 (2005) 80–88. doi: 10.1016/j.brainres.2005.04.073.

84. DAS, Brati *et al.* - BACE1 controls synaptic function through modulating release of synaptic vesicles. **Molecular Psychiatry**. ISSN 14765578. 26:11 (2021) 6394–6410. doi: 10.1038/s41380-021-01166-2.

85. ZOIA, Chiara *et al.* - Glutamate transporters in platelets: EAAT1 decrease in aging and in Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**. ISSN 01974580. 25:2 (2004) 149–157. doi: 10.1016/S0197-4580(03)00085-X.

86. ZOIA, Chiara P. *et al.* - Fibroblast glutamate transport in aging and in AD: correlations with disease severity. **Neurobiology of aging**. United States. ISSN 0197-4580 (Print). 26:6 (2005) 825–832. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2004.07.007.

87. FERRARESE, C. *et al.* - Glutamate uptake is decreased in platelets from Alzheimer's disease patients. **Annals of neurology**. United States. ISSN 0364-5134 (Print). 47:5 (2000) 641–643.

88. KELLER, J. N. *et al.* - Impairment of glucose and glutamate transport and induction of mitochondrial oxidative stress and dysfunction in synaptosomes by amyloid beta-peptide: role of the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal. **Journal of neurochemistry**. England. ISSN 0022-3042 (Print). 69:1 (1997) 273–284. doi: 10.1046/j.1471-4159.1997.69010273.x.

89. LAUDERBACK, C. M. *et al.* - Amyloid beta-peptide inhibits Na⁺-dependent glutamate uptake. **Life sciences**. Netherlands. ISSN 0024-3205 (Print). 65:18–19 (1999) 1977–1981. doi: 10.1016/s0024-3205(99)00459-2.

90. HSIEH, Helen *et al.* - AMPAR Removal Underlies A β -Induced Synaptic Depression and Dendritic Spine Loss. **Neuron**. ISSN 08966273. 52:5 (2006) 831–843. doi: 10.1016/j.neuron.2006.10.035.

91. SNYDER, Eric M. *et al.* - Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta. **Nature neuroscience**. United States. ISSN 1097-6256 (Print). 8:8 (2005) 1051–1058. doi: 10.1038/nn1503.

92. TING, Jonathan T. *et al.* - Amyloid precursor protein overexpression depresses excitatory transmission through both presynaptic and postsynaptic mechanisms. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. ISSN 00278424. 104:1 (2007) 353–358. doi: 10.1073/pnas.0608807104.

93. SPURRIER, Joshua *et al.* - Reversal of synapse loss in Alzheimer mouse models by targeting

mGluR5 to prevent synaptic tagging by CIQ. **Science Translational Medicine**. ISSN 19466242. 14:647 (2022) 46–54. doi: 10.1126/scitranslmed.abi8593.