



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Marta Beatriz Rocha da Silva

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Doença de Alzheimer: mecanismos moleculares de neurodegeneração e a sua modulação por polifenóis da dieta” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Carminda Borges e da Professora Doutora Carla Nunes apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019

Marta Beatriz Rocha da Silva

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Doença de Alzheimer: mecanismos moleculares de neurodegeneração e a sua modulação por polifenóis da dieta” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dr.^a Carmina Borges e da Professora Doutora Carla Nunes apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Eu, Marta Beatriz Rocha da Silva, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2014208148, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Doença de Alzheimer: mecanismos moleculares de neurodegeneração e a sua modulação por polifenóis da dieta” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 2 de setembro de 2019.

Marta Beatriz Rocha da Silva

(Marta Beatriz Rocha da Silva)

Agradecimentos

Aos meus pais, por estarem sempre do meu lado e por fazerem com que isto tudo fosse possível.

Aos meus restantes familiares, por todo o apoio e força transmitida.

Aos amigos inseparáveis, por todos os momentos e aventuras.

À equipa da Farmácia Miranda, por toda a disponibilidade.

À Professora Doutora Carla Nunes por toda a ajuda nesta monografia.

A Itália.

A Coimbra.

A todos, muito obrigada!

Índice

Parte I: Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas	7
1. Introdução.....	8
2. Análise SWOT	9
2.1. Pontos Fortes	9
2.1.1. Conhecimento prévio da equipa e da farmácia.....	9
2.1.2. Disponibilidade e ajuda da equipa	9
2.1.3. SIFARMA 2000®	9
2.1.4. Plano de estágio.....	9
2.1.5. Prestação de serviços farmacêuticos.....	10
2.1.6. Integração da aprendizagem teórica.....	10
2.1.7. Ficha de Cliente.....	10
2.1.8 Período do estágio.....	11
2.2. Pontos Fracos.....	11
2.2.1. Associação do princípio ativo ao nome comercial.....	11
2.2.2. Medicamentos Manipulados.....	11
2.3. Oportunidades	12
2.3.1. Formações	12
2.3.2. Venda de outros produtos de saúde.....	12
2.4. Ameaças.....	12
2.4.1. Venda de MNSRM fora da farmácia.....	12
2.4.2. Legibilidade da Prescrição Manual.....	13
2.4.3. Pedidos de MSRM sem a prescrição médica.....	13
2.4.4. Medicamentos esgotados	13
3. Caso Clínico	14
4. Considerações Finais.....	14
5. Referências Bibliográficas.....	16
6. Anexo	17

Parte II: “Doença de Alzheimer: mecanismos moleculares de neurodegeneração e a sua modulação por polifenóis da dieta”

Resumo	19
Abstract	20
Lista de Abreviaturas	21

I. Doença de Alzheimer.....	23
I.1. Introdução.....	23
I.2. Epidemiologia.....	23
I.3. Sintomas.....	24
I.4. Fisiopatologia	24
I.4.1. Patologia Amilóide.....	25
I.4.2. Patologia da Tau	26
I.5. Mecanismos Moleculares subjacentes à neurodegeneração na Doença de Alzheimer.....	27
I.5.1. A Genética.....	27
I.5.2. Neuroinflamação.....	28
I.5.3. Disfunção Mitocondrial.....	31
I.5.3.1. Excitotoxicidade	32
I.5.4. Stresse Oxidativo	33
I.5.5. Disfunção vascular	36
I.6 Terapêutica Existente	38
2. Polifenóis	38
2.1. Modulação dos mecanismos moleculares associados à DA por polifenóis da dieta	39
2.1.1. Quercetina.....	40
2.1.2. Curcumina	41
2.1.3. Resveratrol.....	43
2.1.4. Epigallocatequina-3-galato	44
3. Conclusão	46
4. Referências Bibliográficas.....	47

Parte I: Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Miranda

Lista de Abreviaturas

FM – Farmácia Miranda

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

MSRM – Medicamento Sujeito a Receita Médica

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. Introdução

A farmácia comunitária representa não só o estabelecimento onde é feita a dispensa do medicamento, mas também o local onde se contacta com o utente, com o intuito de promover ao máximo um tratamento benéfico, e evitar um uso irracional do medicamento. A saúde e bem-estar do doente são a prioridade, tendo o farmacêutico um papel crucial, como agente de saúde pública e especialista do medicamento.¹

A última etapa do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) compreende a realização de um estágio em farmácia comunitária, onde podemos pôr em prática e desenvolver todo o conhecimento que adquirimos ao longo dos 5 anos de curso, obtendo também novas competências e capacidades.

O estágio realizou-se na Farmácia Miranda (FM), no centro histórico de Penafiel, que funciona das 08h30 às 20h durante a semana, e das 08h30 às 19h aos sábados.

A seguinte análise SWOT visa avaliar de uma forma geral o meu estágio, que se realizou entre o dia 1 de abril e 31 de julho de 2019, com duração de 650h, sob orientação da Dr.^a Carminda Borges.

2. Análise SWOT

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Conhecimento prévio da equipa e da farmácia

O facto de ter realizado o estágio extracurricular no verão passado na Farmácia Miranda, fez com que a considerasse o local ideal para finalizar o meu percurso académico, pois já conhecia o espaço, a equipa e um pouco da dinâmica de trabalho. Assim, naturalmente, a evolução pelas diferentes etapas do estágio ocorreu de uma forma mais simples e rápida.

2.1.2. Disponibilidade e ajuda da equipa

Desde o primeiro dia que a equipa da FM demonstrou grande disponibilidade, deixando-me à vontade para esclarecer dúvidas durante a execução de todas as tarefas, ajudando-me a melhorar e intervindo no atendimento, sempre que necessário. O profissionalismo e boa disposição são elementos essenciais que contribuem para a existência de um ambiente favorável, facilitando o trabalho da equipa, o atendimento prestado ao utente e, compreensivelmente, a experiência do estagiário. O bem-estar do doente surge em primeiro lugar, tendo a farmácia como objetivo principal satisfazer as suas necessidades de uma forma transparente e competente. Esta máxima faz com que o utente se fidelize como cliente da farmácia, pela confiança que depositam em toda a equipa.

2.1.3. SIFARMA 2000[®]

A FM está equipada com o SIFARMA 2000[®], um sistema informático desenvolvido pela Glintt, utilizado pela maioria das farmácias em Portugal.² Permite a gestão e atendimento na farmácia comunitária, disponibilizando informação técnica e científica atualizada, promovendo um aconselhamento fundamentado e consciente, e esclarecendo dúvidas que possam surgir, relacionadas com contraindicações, posologias e indicações terapêuticas. Para além disso, alerta para possíveis interações medicamentosas, gere o stock mínimo e máximo, o prazo de validade e vendas mensais, efetua encomendas, entre outros. O SIFARMA 2000[®] reduz assim a possibilidade de ocorrerem erros durante a dispensa da receita eletrónica, o que é extremamente importante, especialmente no início de experiência. Desde o início do estágio, fui explorando as diversas funcionalidades do programa, de modo a facilitar o seu uso regular.

2.1.4. Plano de estágio

Durante o estágio tive a oportunidade de executar diversas tarefas envolventes no funcionamento da farmácia comunitária. Comecei pela receção e armazenamento de encomendas, que me permitiu familiarizar com os produtos e respetivo local de arrumo,

facilitando, mais tarde, o atendimento, participei na gestão de produtos, efetuando devoluções e respetiva regularização, na realização de testes bioquímicos, tive uma perceção de como realizar técnicas de *merchandising* e *marketing*, fundamentais para apresentar os produtos ao utente, observei e auxiliei na organização da faturação e conferência do receituário. Por fim, comecei a fase do atendimento, no início assistindo e, mais tarde, realizando-o. Esta foi, sem dúvida, a fase mais desafiante, onde tive de pôr em prática todos os meus conhecimentos científicos, e utilizá-los para um bom aconselhamento ao doente. Muitas dúvidas foram surgindo, mas contei com o total apoio da equipa e, com o passar do tempo, senti-me mais confortável a transmitir a informação e a interagir com o doente.

2.1.5. Prestação de serviços farmacêuticos

A FM dispõe de um gabinete de apoio ao utente onde são prestados serviços como a medição da pressão arterial e a realização de testes bioquímicos (colesterol total, triglicéridos, glicemia e ácido úrico), e onde dialogamos com o utente quando este aborda um assunto delicado, que necessite de uma maior privacidade. No início, acompanhei os membros da equipa na realização destas tarefas, onde observei as técnicas de execução, aprendi a utilizar os aparelhos, informei-me acerca dos valores de referência de cada parâmetro de avaliação e das questões que devem ser colocadas ao utente antes e após a realização do teste, até ter total autonomia. Terminados os serviços/testes, era disponibilizado ao utente um cartão onde se registravam os valores obtidos, permitindo um maior controlo e, se fosse o caso, a possibilidade de mostrá-lo numa consulta médica para monitorização. Esta etapa foi fundamental no meu estágio, pois permitiu-me o primeiro contacto direto com o utente, havendo uma maior proximidade que incentivava a própria intervenção farmacêutica. Esta interação deu-me alguma confiança para a fase do atendimento.

2.1.6. Integração da aprendizagem teórica

O MICF é composto por um conjunto diversificado de unidades curriculares e conta com uma forte componente teórica, que nos permite desenvolver um espírito crítico no momento do aconselhamento e dispensa do medicamento e/ou outros produtos existentes, tendo sempre em conta o bem-estar do utente e todo o rigor que isso acarreta.

2.1.7. Ficha de Cliente

A ficha de cliente torna-se uma ferramenta muito útil, pois facilita o atendimento ao utente, permitindo saber se este tem preferência pelo medicamento de marca ou genérico e, neste caso, identificar o laboratório de uso constante da substância ativa solicitada. É muito comum

esta situação acontecer com pessoas de idade mais avançada, pois, muitas vezes, não conseguem identificar o laboratório em causa, e não aceitam a mudança física da embalagem, por não reconhecerem o medicamento ou por terem medo de não surtir o efeito desejado. Para além de facilitar o trabalho do profissional, este processo cria empatia com o utente e diminui o risco de não adesão à terapêutica.

2.1.8 Período do estágio

Pelo facto de o estágio ter ocorrido durante uma mudança climática brusca, a solicitação de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) que, geralmente, são sazonais, foi muito variada, desde antigripais e antitússicos, até anti-histamínicos, protetores solares, repelentes de insetos, produtos para queimaduras solares, infeções fúngicas, etc., permitindo-me aprofundar os conhecimentos sobre estes produtos e grupos terapêuticos.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Associação do princípio ativo ao nome comercial

No início do estágio, o contacto com a imensa diversidade de produtos presentes na FM tornou-se um pouco intimidante, pois muitos deles eram perfeitos desconhecidos para mim. Durante a formação académica, não somos muito confrontados com o nome comercial dos medicamentos e não fazemos a associação entre o nome e a substância ativa. Por vezes, os utentes solicitaram fármacos com nomes que eu não reconhecia, dificultando um pouco a comunicação. Para realizarmos um bom aconselhamento, é necessário conhecer os produtos disponíveis e quais os mais adequados para a situação em causa. Por isso, durante a receção e armazenamento de encomendas recorria ao SIFARMA para obter todas as informações necessárias, de modo a conhecer o produto. Esta barreira foi sendo ultrapassada com o decorrer do estágio, onde a experiência permitiu familiarizar-me com os nomes, especialmente de medicamentos associados a doenças crónicas.

2.2.2. Medicamentos Manipulados

Um medicamento manipulado é “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico”³ que permite ultrapassar limitações encontradas nos medicamentos disponíveis no mercado, relacionadas com a forma farmacêutica, substância ativa e excipientes e/ou dosagem.

Devido ao número reduzido de pedidos na FM, não se justifica dispor da matéria-prima necessária para a execução do manipulado, pois, com o passar do tempo, as suas características podem ser alteradas. Consequentemente, não observei nenhuma preparação,

tendo sido o contacto com o laboratório reduzido à reconstituição de preparações extemporâneas.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Formações

Durante o estágio participei em duas formações externas, uma organizada pela Gedeon Richter, subordinada ao tema “Farmácia e o Aconselhamento à Mulher em Atendimento”, em Penafiel, e outra pela Pharma Nord sobre a linha BioActivo[®], em Vila Nova de Gaia e assisti a apresentações de delegados de informação médica na farmácia. Este tipo de instrução permitiu-me ter um conhecimento mais alargado sobre as temáticas, que me ajudou e facilitou no aconselhamento ao utente, podendo indicar o produto mais adequado e esclarecer possíveis dúvidas acerca de cada um. Gostaria de ter participado em mais formações, pois fornecem uma abordagem mais específica e minuciosa de produtos existentes e novos no mercado.

2.3.2. Venda de outros produtos de saúde

A FM possui uma vasta gama de suplementos alimentares, que são cada vez mais utilizados, como reforço nutricional, para o bem-estar geral, fadiga física e/ou psicológica etc. Nos últimos meses, verifiquei uma maior procura de produtos associados ao estímulo mental/desempenho intelectual, ansiedade e dificuldade em dormir, especialmente por parte dos estudantes, durante a época de exames. Com a proximidade do verão, também se verificou um aumento da procura de produtos de emagrecimento, especialmente por parte das mulheres. O aconselhamento nesta área é também fundamental, porque muitos utentes associam este tipo de produto a “medicamentos naturais”, e é essencial que o profissional de saúde explique que estes também podem ter efeitos indesejáveis, e que não são aconselhados a algumas pessoas e situações, assegurando um uso racional em prol da saúde do utente.

2.4. Ameaças

2.4.1. Venda de MNSRM fora da farmácia

Os MNSRM para uso humano podem ser vendidos fora das farmácias desde que cumpram os requisitos legais e regulamentares e que estejam devidamente registados no INFARMED, I.P., segundo o Decreto-Lei n.º 134/2005.⁴ O objetivo deste decreto é proporcionar à população uma maior acessibilidade ao produto, pelo aumento de postos de venda, o que, conseqüentemente, faz com que haja uma redução de preços por haver mais concorrência,

obrigando muitas vezes a farmácia a reduzir a margem de lucro para se tornar mais competitiva.

O facto de poderem adquirir o medicamento sem um profissional de saúde, acaba por banalizar o seu uso, pois não existe um aconselhamento técnico e científico que promova o uso racional e consciente, havendo, por vezes, casos de reações adversas, interações medicamentosas e uso incorreto.

De forma indireta, podem pôr em causa a saúde pública, sendo não só prejudicial para as farmácias mas, principalmente, para a população.

2.4.2. Legibilidade da Prescrição Manual

Em situações excepcionais, os médicos podem prescrever através da via manual. Contudo, as receitas manuais são mais suscetíveis a erros, principalmente por causa da legibilidade. Por isso, devido à minha pouca experiência, pedia sempre a um farmacêutico para confirmar a minha interpretação.

2.4.3. Pedidos de MSRM sem a prescrição médica

Diariamente, deparei-me com a solicitação de MSRM por parte de utentes que não dispunham da respetiva receita. Esta situação causava, muitas vezes, um conflito entre o utente e o profissional. O utente tentava causar uma certa pressão, ao afirmar que não conseguia marcar consulta médica e que já não tomava a medicação há alguns dias, no caso de medicação crónica, ou então solicitava medicação específica para situações esporádicas, por exemplo, utentes que pediam antibiótico por terem dores de dentes. Dependendo da personalidade, quando o pedido era negado, mesmo que devidamente justificado por alguém da equipa, algumas pessoas entendiam e outras ficavam revoltadas, afirmando que conseguiam adquirir o medicamento noutras farmácias.

A FM sempre me incutiu que devemos agir conforme a legislação e que devemos tentar explicar ao utente as nossas razões, para agirmos sempre em conformidade.

2.4.4. Medicamentos esgotados

Durante os 4 meses de estágio, alguns medicamentos, especialmente de uso crónico, encontravam-se esgotados, uns por pouco tempo, outros durante meses. Esta situação causava um enorme desconforto ao utente, pois alguns dos medicamentos não possuíam equivalentes, deixando a pessoa sem medicação. Muitas vezes, a solução passava por marcar uma consulta para que o médico analisasse a situação e alterasse ou a dose do medicamento ou a substância

ativa, correndo o risco de não surtir o mesmo efeito. Noutros casos, quando se podia optar por um equivalente, alguns utentes recusavam-se, afirmando que “estavam habituados ao que está esgotado e que os outros podiam não ter o mesmo efeito”. Uma situação muito recorrente foi a procura da Aspirina GR® 100 mg, que se encontrava esgotada em todos os armazéns nacionais. No entanto, o utente podia optar pelo Cartia® ou pelo genérico, ácido acetilsalicílico. Todos os dias estávamos em contacto com os fornecedores para tentar repor stocks mas, na maioria das vezes, a tentativa não era bem-sucedida, e não nos era dada uma data de previsão de entrega por parte do laboratório.

3. Caso Clínico

Uma senhora dirigiu-se à farmácia com uma receita médica eletrónica com medicação para o seu filho de 6 anos, que apresentava uma infeção respiratória associada a tosse seca. Nesta constava o Zithromax® (azitromicina) 40 mg/ml pó para suspensão oral, um antibiótico macrólido que penetra nos tecidos infestados e inibe a síntese proteica da bactéria⁵, e o Atarax® (hidroxizina) 2 mg/ml xarope, um anti-histamínico H1 sedativo.⁶

Ao introduzir a receita no SIFARMA, foi detetada uma interação medicamentosa muito grave entre estes fármacos, pois a associação da azitromicina e hidroxizina pode aumentar o risco de arritmia ventricular grave. Por isso, perguntei à mãe se o seu filho sofria de alguma doença cardiovascular, e a resposta foi negativa. Expus a situação e sugeri que o melhor seria contactar o pediatra para confirmar a prescrição. Este afirmou que tinha conhecimento do caso e pediu para esclarecer a utente. Expliquei-lhe, então que deveria estar atenta ao aparecimento de alguns sintomas como tonturas, desmaios, falta de ar ou palpitações e, se tal acontecesse, deveria dirigir-se de imediato ao hospital. A senhora levou a medicação prescrita.

4. Considerações Finais

O estágio curricular na farmácia comunitária é um ponto essencial na nossa formação, pois é a ponte de ligação entre o conhecimento que adquirimos durante a vida académica e o mundo de trabalho, onde nos deparamos diretamente com a realidade.

De facto, ficou claro a importância que os profissionais têm na vida das pessoas, não só contribuindo para a sua saúde mas também, muitas vezes, tornando-se uma figura amiga, um confidente, que ouve e dá algum conforto em situações mais complexas na vida do utente.

Durante este estágio adquiri, não só, competências técnicas e científicas, mas também enriqueci as minhas capacidades inter e intrapessoais, necessárias a prestar um bom

atendimento. A equipa da FM contribui muito para o meu crescimento profissional, facultando-me as valências necessárias para uma boa formação.

5. Referências Bibliográficas

¹ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos**. [Acedido a 6 de agosto de 2019]. Disponível em: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/codigo_deontologico_da_of_4436676175988472c14020.pdf

²GLINTT – **SIFARMA – Desenvolvido por e para Farmacêuticos. 90% das Farmácias em Portugal usam o SIFARMA**. [Acedido a 6 de agosto de 2019]. Disponível em: <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/SoftwareSolutions/Paginas/Sifarma.aspx>

³INFARMED – **Medicamentos Manipulados**. [Acedido a 6 de agosto de 2019]. Disponível em: http://www.infarmed.pt/web/infarmed/infarmed?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_returnToFullPageURL=http%3A%2F%2Fwww.infarmed.pt%2Fweb%2Finfarmed%2Finfarmed%3Fp_auth%3DitxSusAw%26p_p_id%3D3%26p_p_lifecycle%3D1%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_state_rcv%3D1&_101_assetEntryId=1487057&_101_type=content&_101_urlTitle=medicamentos-manipulados&inheritRedirect=false

⁴DIÁRIO DA REPÚBLICA ELETRÓNICO – **Decreto-Lei n.º 134/2005**. Diário da República, 1ª Série-A, N.º 156 de 16 de agosto de 2005. [Acedido a 7 de agosto de 2019]. Disponível em: <https://dre.pt/pesquisa/-/search/243692/details/maximized>

⁵INFARMED – **Resumo das Características do Medicamento Zithromax® 40 mg/ml pó para suspensão oral** [Acedido a 1 de agosto de 2019]. Disponível na Internet em: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=9471&tipo_doc=fi

⁶INFARMED – **Resumo das Características do Medicamento Atarax® 2 mg/ml xarope** [Acedido a 1 de agosto de 2019]. Disponível na Internet em: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=656&tipo_doc=fi

6. Anexo

Anexo I: Interação muito grave entre a Hidroxizina e a Azitromicina

Atendimento nº 2511939 *** RECEITA Nº 1 ***

RECETO DE AVISOS

Utente

Reações Adversas | Contra-indicações | Interações | Terapia Duplicada

Medicamento A	Substância A	Medicamento B	Substância B	Data	Gr
Atrox, 2 mg/mL, 250 mL, x 1 via colher	Hidroxizina	Zitronex, 40 mg/mL, 30 mL	Azitromicina	14/04/2018	3

Mecanismo
A associação de azitromicina (antibacteriano) e hidroxizina (anti-histamínico) pode aumentar o risco de arritmia ventricular grave. Monitorizar ECG e corrigir eletrólitos antes de iniciar terapêutica.

Ação Recomendada
Não dispense sem falar com o médico

Mensagem para o utente
Assegure que o médico sabe que vai tomar os 2 medicamentos e siga com rigor as suas indicações. Se surgir tonturas, hipotensão ou perda de consciência consulte de imediato o médico.

[F4] Justificar

INSERT - Marca/Desmarca F8- Marca todos/Desmarca todos

[F5] Finalizar [Esc] Sair

Parte II

“Doença de Alzheimer: mecanismos moleculares de neurodegeneração e a sua modulação por polifenóis da dieta”

Resumo

A Doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa, crónica e progressiva, que se caracteriza pela perda das capacidades cognitivas. As lesões neuropatológicas características desta doença são os agregados de peptídeos β -amilóide ($A\beta$) e as tranças neurofibrilares (NFTs) compostas por proteína tau hiperfosforilada.

Afeta maioritariamente indivíduos com mais de 65 anos, sendo Portugal um dos países com maior prevalência a nível mundial. O doente inicialmente apresenta episódios de esquecimento e confusão, tem discursos pouco coerentes e, com a progressão da doença, vivencia alterações psicóticas. Deixa de ser autónomo, necessitando da ajuda de cuidadores para realizar tarefas do dia-a-dia como a alimentação e higienização.

A terapia farmacológica atualmente utilizada revela-se claramente ineficaz, tendo apenas como objetivo retardar a progressão da doença e melhorar a sintomatologia, não conduzindo à cura da doença.

Os polifenóis da dieta, devido às suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, têm sido alvo de uma intensa investigação no contexto da prevenção e tratamento de várias doenças crónicas, nomeadamente de doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer, sendo atualmente, considerados moléculas altamente promissoras para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras nestas doenças.

Na presente monografia, serão abordados alguns dos mecanismos moleculares subjacentes ao desenvolvimento da doença de Alzheimer e a sua potencial modulação por alguns polifenóis.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer, peptídeo β -amilóide, proteína tau, neurodegeneração, stresse oxidativo, disfunção mitocondrial, polifenóis da dieta.

Abstract

Alzheimer's Disease (AD) is a chronic, progressive neurodegenerative disease characterized by loss of cognitive abilities. The neuropathological lesions characteristic of this disease are β -amyloid ($A\beta$) aggregates and neurofibrillary tangles (NFTs) composed of hyperphosphorylated tau protein.

It mostly affects individuals over 65 years old and Portugal is one of the countries with the highest prevalence worldwide. The patient initially has episodes of forgetfulness and confusion, has inconsistent discourses and with the progression of the disease, experiences psychotic alterations. It stops being autonomous, needing the help of caregivers to carry out tasks of the daylife like feeding and hygiene.

The pharmacological therapy currently used is clearly ineffective, aiming only to slow the progression of the disease and improve the symptoms, not leading to the cure of the disease.

Dietary polyphenols, due to their antioxidant and anti-inflammatory properties, have been the subject of intense research in the context of prevention and treatment of various chronic diseases, including neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease, and are currently considered highly promising molecules for the development of innovative therapeutic strategies in these diseases.

In the present monograph, some of the molecular mechanisms underlying the development of Alzheimer's disease and its potential modulation by some polyphenols will be addressed.

Keywords: Alzheimer's disease, β -amyloid peptide, tau protein, neurodegeneration, oxidative stress, mitochondrial dysfunction, polyphenols.

Lista de Abreviaturas

4-HNE - 4-hidroxinonenal

ACh - Acetilcolina

AChE - Acetilcolinesterase

AMPA - α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico

ApoE - Apolipoproteína E

APP - Proteína Precursora Amilóide

ATP - Adenosina Trifosfato

A β - Peptídeo β -amilóide

BACE I - Enzima de clivagem proteolítica da APP no local β , do inglês *β -site APP cleaving enzyme I*

BHE - Barreira hematoencefálica

Cdk5 - Cinase 5 dependente de ciclina

COX-2 - Cicloxigenase 2

CYP - Citocromo P450

DA - Doença de Alzheimer

DAMPs - Padrões Moleculares Associados a Danos, do inglês *Damage-associated molecular pattern*

DNA - Ácido desoxirribonucleico, do inglês *deoxyribonucleic acid*

EGCG - Epigallocatequina galato

GSH - Glutatião

GSK-3 - Glicogénio Sintase Cinase-3

IFN - Interferon

IL - Interleucina

iNOS - Sintase do Óxido Nítrico Indutível, do inglês *Inducible Nitric Oxide Synthase*

M-CSF - Fator Estimulador de colónias de macrófagos, do inglês *Macrophage colony-stimulating factor*

NF- κ B - Fator Nuclear kappa B

NFTs - Tranças Neurofibrilares, do inglês *Neurofibrillary Tangles*

NMDA - N-metil-D-aspartato

PAMPs - Padrões Moleculares Associados a Patógenos, do inglês *Pathogen-associated molecular pattern*

PRR - Recetores de Reconhecimento de Padrão, do inglês *Pattern recognition receptors*

PS - Presenilina

RAGE - Recetores para produtos finais da glicação avançada, do inglês *Receptor for Advanced Glycation Endproducts*

RNS - Espécies Reativas de Nitrogénio, do Inglês *Reactive Nitrogen Species*

ROS - Espécies Reativas de Oxigénio, do inglês *Reactive Oxygen Species*

SIRT - Sirtuína

SNC - Sistema Nervoso Central

SOD - Superóxido Dismutase

TGF- β - Fator de transformação do crescimento beta, do inglês *Transforming Growth Factor Beta*

TIM - Translocase da Membrana Interna Mitocondrial, do inglês *Translocase of the Inner Membrane*

TLR - Recetores do tipo Toll, do inglês *Toll-like receptors*

TNF α - Fator de Necrose Tumoral, do inglês *Tumor necrosis factor*

TOM - Translocase da Membrana Externa Mitocondrial, do inglês *Translocase of the Outer Membrane*

I. Doença de Alzheimer

I.1. Introdução

Com o normal processo fisiológico do envelhecimento, surge um declínio gradual das funções cognitivas. Contudo, episódios como a perda progressiva de memória, desorientação, dificuldade em manter uma conversa ou seguir um raciocínio, podem indicar a presença de um quadro patológico de demência. Se as alterações começarem a interferir de alguma maneira com o quotidiano do indivíduo, é necessário fazer uma avaliação médica, onde se analisa a história clínica do doente, e se fazem testes físicos e neurológicos, nomeadamente, uma avaliação cognitiva e testes laboratoriais.¹

A doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum de demência. Por norma, afeta maioritariamente indivíduos acima dos 65 anos.² É uma doença neurodegenerativa crónica e progressiva que afeta as áreas cerebrais do córtex e hipocampo.³ Clinicamente, manifesta-se por perdas de memória, nomeadamente, no que respeita a acontecimentos recentes e datas importantes, pela repetição contínua de um discurso, desorientação e perda de noção temporal, por alterações de personalidade, não reconhecimento de familiares e, com o avanço da doença, por dificuldades locomotoras e dependência de terceiros para a realização de tarefas básicas como a alimentação e a higiene.¹

A DA subdivide-se em duas formas, a familiar e a esporádica. A primeira e menos usual, tem um início precoce, afetando indivíduos com menos de 60 anos, e tem causa hereditária autossómica dominante, estando relacionada com a presença de mutações nos genes que codificam a proteína presenilina 1 (PS1), a proteína presenilina 2 (PS2) e a proteína precursora amiloide (APP), tendo como consequência a sobreprodução de A β .⁴

A forma esporádica, de início tardio, como já referido, é a mais comum, tendo como fatores de risco principais a idade, níveis elevados de colesterol, diabetes, doenças cardiovasculares e ser portador do alelo 4 da apolipoproteína E (ApoE).^{4,5}

I.2. Epidemiologia

A demência causa uma grande dependência, sendo, por isso, uma doença que afeta não só o seu portador, mas, também, os que o rodeiam, familiares e/ou cuidadores. Tem um grande impacto sócio-económico, envolvendo elevados custos, incluindo gastos no tratamento médico e nos cuidados que visam proporcionar ao doente uma melhor qualidade de vida e maior conforto, sendo estes suportados pelos familiares e pelo estado.

A Organização Mundial de Saúde estima que existam 50 milhões de pessoas com demência em todo o mundo, destacando-se a DA que representa 60 a 70% destes casos. Com o aumento do envelhecimento da população, é esperado que estes números tripliquem até 2050 sendo essencial que todos os pacientes tenham direito a um diagnóstico adequado e preciso.⁶ Não existe nenhum estudo epidemiológico que retrate a situação em Portugal. Contudo, no Relatório “Health at a Glance 2017” da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Económico (OCDE) onde se estudou a prevalência mundial da demência, Portugal apresenta-se em 4º lugar com 19,9 casos por cada 1000 habitantes.⁷

I.3. Sintomas

Apesar de poderem variar de indivíduo para indivíduo, os sintomas iniciais mais comuns são a perda de memória e a incapacidade de reter novas informações. Tal acontece, pois, os neurónios presentes nas zonas envolvidas na memória (estruturas do lobo temporal, sobretudo o hipocampo) são os primeiros a ser afetados.

Com o avançar da doença, os sintomas tornam-se mais graves, e o doente pode tornar-se mais irritado, sentir-se confuso/perdido, deixar de reconhecer sítios onde passa o seu dia-a-dia e pessoas mais chegadas, perder a capacidade de comunicar e discursar e estar constantemente a questionar-se e repetir-se. Perda das capacidades locomotoras, rigidez e distúrbios do sono também podem ser sentidos, assim como, dificuldades na deglutição, precisando da ajuda de um cuidador para desempenhar tarefas básicas como a higienização e a alimentação.⁸⁻¹¹ Normalmente, após o diagnóstico da DA, os doentes apresentam uma esperança média de vida compreendida entre os 8 e 10 anos.¹²

I.4. Fisiopatologia

A DA é caracterizada pela presença de placas senis, formadas por depósitos extracelulares de peptídeo A β e tranças neurofibrilares (NFTs), compostas por agregados intracelulares da proteína tau hiperfosforilada (Figura 1). Normalmente, estas alterações proteicas ocorrem cerca de 10 a 15 anos antes do aparecimento dos primeiros sintomas da doença e parecem desempenhar um papel importante na fisiopatologia da DA.¹³

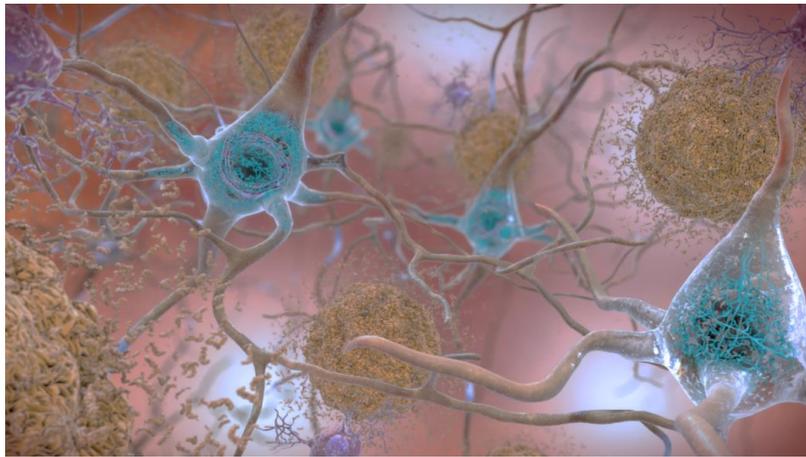


Fig. 1- Placas senis e NFTs no cérebro. (Adaptado de)¹⁴

1.4.1. Patologia Amilóide

A hipótese da cascata amiloide sugere que a deposição anormal de peptídeo A β , formando as placas senis, poderá desencadear uma série de eventos, sendo de referir, nomeadamente, inflamação, disfunção mitocondrial, stresse oxidativo, etc., os quais, conjuntamente, acabam por conduzir à disfunção e morte neuronal que ocorre na DA.¹⁵

A proteína precursora amilóide (APP) é uma proteína transmembranar que pode ser processada através de duas vias distintas:

1 - via não amiloidogénica, onde é clivada sequencialmente pelas, enzimas α -secretase e γ -secretase, resultando na libertação do fragmento da proteína precursora amilóide α solúvel (APP α) e na formação de um fragmento hidrofóbico e do domínio intracelular da APP (APPICD), compostos com propriedades neuroprotetoras, não ocorrendo, nesta via a formação de peptídeos de A β ;

2 - via amiloidogénica, através da qual a APP é clivada sequencialmente pela β -secretase I (BACE I) e γ -secretase, originando peptídeos A β , cuja dimensão pode variar¹⁶ (Figura 2). Os peptídeos A β 40 e A β 42, compostos respetivamente por 40 e 42 aminoácidos, são os principais peptídeos formados nesta via.¹⁵ Os peptídeos β -amilóide têm tendência para auto agregar, a qual aumenta com o tamanho do peptídeo, formando inicialmente oligómeros e depois fibrilas que, posteriormente, condensam e formam as placas senis que se acumulam no parênquima cerebral¹⁷ e nos vasos sanguíneos cerebrais de doentes com DA.¹⁸ O peptídeo A β 42 é aquele que apresenta maior neurotoxicidade e predominância nas placas senis, devido à sua maior taxa de fibrilização e insolubilidade.¹⁵

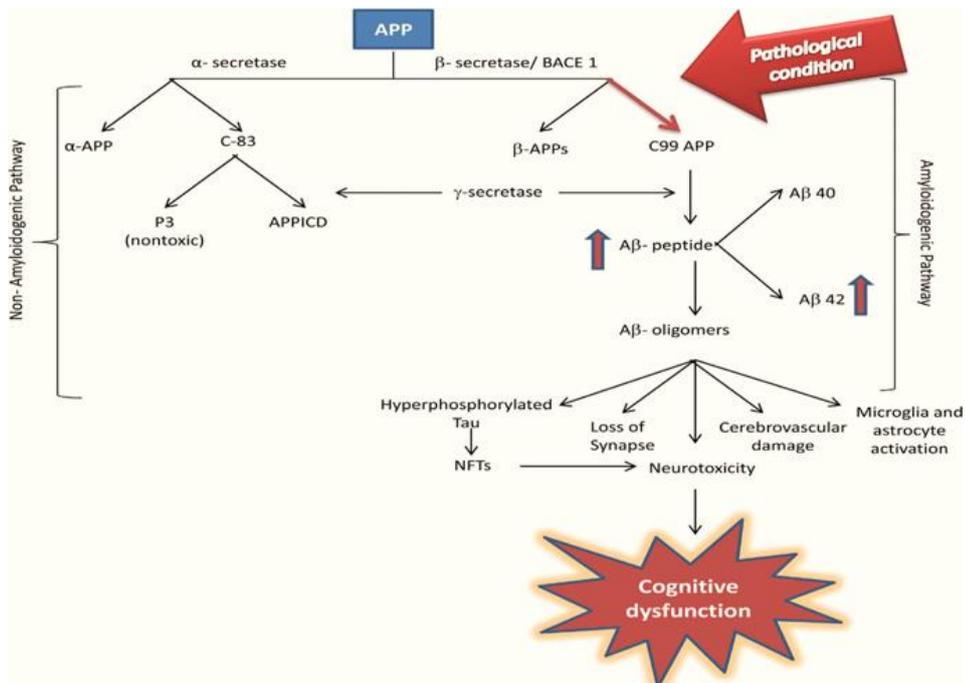


Fig. 2 - Representação do processamento proteolítico da proteína precursora amilóide (APP). A APP pode ser processada por duas diferentes vias: a via não-amiloidogénica e a via amiloidogénica. (Adaptado de)¹⁹

1.4.2. Patologia da Tau

Diversos estudos mostram níveis aumentados de proteína tau-total e fosforilada no cérebro e LCR de doentes com DA.²⁰

Em situações fisiológicas normais, o transporte axonal e o tráfego intracelular entre o corpo celular neuronal e os compartimentos intracelulares são assegurados pelos microtúbulos, componentes do citoesqueleto que são revestidos e estabilizados pela proteína tau em conjunto com a tubulina, regulando assim a função sináptica.²¹ Na DA, a tau hiperfosforilada, separa-se dos microtúbulos, que ficam instáveis, e forma filamentos nos neurónios, tornando-os disfuncionais. A contínua acumulação destes filamentos forma as tranças neurofibrilares (NFTs), anteriormente referidas, que se libertam e afetam neurónios vizinhos, induzindo disfunção sináptica e contribuindo para a apoptose neuronal.^{21,22}

Um desequilíbrio entre a atividade de proteínas cinases, como a cinase 5 dependente de ciclina (cdk5) e a glicogénio sintase cinase 3β (GSK-3β), e a atividade de fosfatases, estará na origem da hiperfosforilação da tau.²¹

As tranças fibrilares formam-se no lobo temporal, mais precisamente no hipocampo, afetando diretamente a memória, a aprendizagem, o reconhecimento e a capacidade de gesticular. Já as placas senis, afetam a zona do córtex cerebral e, mais tarde, o hipocampo.^{8,22}

I.5. Mecanismos Moleculares subjacentes à neurodegeneração na Doença de Alzheimer

Atualmente e, apesar da intensa investigação que tem vindo a ser realizada no contexto da doença de Alzheimer, não se conhecem, ainda, nem as causas da doença, nem a sequência precisa dos eventos que conduzem à degenerescência e morte neuronal. No entanto, diversos estudos, nomeadamente estudos *postmortem* e estudos com modelos animais da doença, sugerem fortemente que a genética, a neuroinflamação, a disfunção mitocondrial, o stresse oxidativo e a disfunção vascular desempenham um papel chave no desenvolvimento e progressão da doença.²³ Tais mecanismos irão ser discutidos de seguida.

I.5.1. A Genética

Vários estudos genéticos evidenciam o envolvimento de algumas mutações no desenvolvimento da DA.²³

A presença de mutações nos genes que codificam as presenilinas 1 e 2 (PS1 e PS2) e a APP, apesar de não ser mandatário, é um fator de risco para o desenvolvimento da forma familiar de DA. Estas mutações, normalmente, resultam numa alteração na produção dos diferentes peptídeos A β e na sua proporção relativa.²⁴

As presenilinas são proteínas transmembranares, que se localizam no retículo endoplasmático²⁵ e endossomas. São subunidades da γ -secretase, tendo, portanto, um importante papel na clivagem da APP.²⁴ As mutações nestes genes resultam num processamento proteolítico da APP mais intenso.²⁶

Encontra-se bem documentado que os indivíduos com Síndrome de Down são mais suscetíveis de desenvolver doença de Alzheimer. Efetivamente, estudos *postmortem* revelaram níveis elevados de placas senis e NFTs no cérebro da grande maioria de indivíduos com Síndrome de Down. Tal facto, ocorrerá devido à localização do gene da APP no cromossoma 21, o qual possui uma cópia extra nesta patologia, levando a um aumento da expressão da APP.²⁷

Em relação à forma tardia da doença, a par com fatores ambientais, o polimorfismo da APOE revela-se um fator de risco importante. O gene APOE possui três alelos (ϵ 2, ϵ 3 e ϵ 4), que codificam três diferentes proteínas: ApoE2, ApoE3, ApoE4, respetivamente. A ApoE é sintetizada, maioritariamente, pelo fígado, neurónios e células da glia, sendo a principal apolipoproteína presente no cérebro. Repara danos neurológicos e tem como principais funções regular o metabolismo das lipoproteínas e transportar o colesterol para os neurónios através dos seus recetores.⁴

Os portadores do alelo $\epsilon 4$ da ApoE apresentam uma maior probabilidade de desenvolver a forma esporádica da DA. No entanto, os mecanismos subjacentes não se encontram ainda completamente esclarecidos.⁴ De seguida, são abordados três mecanismos em que a ApoE poderá estar implicada, e onde atua de maneira diferente, dependendo da sua morfologia.

Pensa-se que a ApoE esteja envolvida na depuração de A β do cérebro para o sistema vascular, através da barreira hematoencefálica (BHE). No caso da ApoE4, a taxa de remoção do A β através do transportador LRPI (do inglês *Low density lipoprotein receptor-related protein 1*), é significativamente inferior à observada relativamente à ApoE2 e ApoE3, provocando uma acumulação de A β no parênquima cerebral.²⁸

O peptídeo A β pode, também, ser fagocitado pelos astrócitos e microglia, através de uma série de recetores expressos na sua superfície, assunto que será abordado posteriormente.²⁹ Embora o mecanismo ainda não esteja bem definido, existem fortes evidências de que a isoforma ApoE4 compromete a capacidade de ligação e captação de A β pelos astrócitos.³⁰

Um estudo *in vitro* realizado em células de glioblastoma e neuroglioma humano constatou que a ApoE4 diminui significativamente a secreção de sAPP α e as proporções de sAPP α / A β , sugerindo a inibição da proteólise da APP no local α como um possível mecanismo.³¹

A Sirtuína I (SirtI), enzima desacetilase dependente de NAD⁺, está envolvida no normal processo de envelhecimento e suprime algumas vias de sinalização relacionadas com a DA, como o processamento de APP. Acredita-se que a SIRT1 previne a formação de oligómeros A β , ao induzir o processamento da APP pela via não amiloidogénica, através da ativação de ADAMI0, enzima com atividade de α -secretase. Ao mesmo tempo, pode desacetilar a proteína tau, deixando-a suscetível à ubiquitinação. Quando a sua atividade está reduzida, há uma acumulação dos peptídeos A β e um aumento da fosforilação da tau, verificado nos cérebros *postmortem* da DA.^{31,32} Alguns estudos mostram que a ApoE4 reduz a expressão de RNAm de SirtI e, conseqüentemente, da proteína SirtI. A ApoE4 enfraquece assim o poder neuroprotetor da SirtI.³³

1.5.2. Neuroinflamação

A inflamação é uma resposta imune não específica que ocorre em reação a qualquer tipo de lesão corporal. Trata-se, portanto, normalmente, de uma resposta fisiológica autolimitada que tem como objetivo eliminar os estímulos causadores da lesão e iniciar os processos de recuperação da mesma de modo a retornar a um estado de homeostasia. No entanto, em

certas circunstâncias, a resposta inflamatória pode tornar-se persistente, levando a uma excessiva injúria tecidual e ao desenvolvimento de doença.³⁴

A neuroinflamação parece desempenhar um papel crucial na neurodegeneração observada na DA, sendo a microglia e os astrócitos mediadores chave deste processo. Efetivamente, estudos *postmortem* revelam a acumulação de inúmeras células microgлияis e astrócitos reativos a rodear as placas senis no cérebro de doentes de Alzheimer, indicativo de que níveis elevados de peptídeo A β e a sua agregação terão um papel importante na ativação descontrolada e exacerbada destas células gliais.³⁵

As células da microglia são células fagocíticas e imunocompetentes presentes no SNC, altamente sensíveis a alterações na homeostasia cerebral. Substâncias microbianas, como ácidos nucleicos virais, carboidratos presentes em fungos, proteínas e lípidos estruturais bacterianos, são consideradas Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMPs), e moléculas endógenas produzidas ou libertadas por células danificadas ou mortas, denominadas Padrões Moleculares Associados a Danos (DAMPs).^{36,37} Estes padrões são reconhecidos pelas células microgлияis através dos seus recetores de reconhecimento de padrão (PRRs),³⁷ resultando na rápida ativação destas células num estado pró-inflamatório (Fenótipo M1). A microglia, neste estado de ativação, produz uma série de mediadores inflamatórios, tais como citocinas pró-inflamatórias, incluindo o fator de necrose tumoral- alfa (TNF α), o interferon-gama (IFN- γ), o fator estimulador de colónias de macrófagos (M-CSF) e interleucinas (IL)-1 e 6, expressa enzimas inflamatórias como a cicloxigenase-2(COX-2) e óxido sintase do óxido nítrico indutível (iNOS), e produz, também, espécies reativas de oxigénio (ROS) e espécies reativas de nitrogénio (RNS).^{35,36,38}

Em situações agudas, a microglia apresenta capacidade de alterar o seu estado de ativação M1 para um fenótipo anti-inflamatório M2, passando a produzir citocinas anti-inflamatórias e fatores neurotróficos, levando, desta forma, à restauração da homeostase tecidual. Contudo, num cenário de neurodegeneração patológica, como o que ocorre na DA, observa-se uma ativação persistente da microglia no fenótipo M1, o que resulta numa produção descontrolada e exacerbada de mediadores inflamatórios e ROS/RNS, contribuindo para a degenerescência e morte neuronal.^{35,39} Neste contexto, importa referir que a apoE parece ter um papel relevante na conversão do estado M1 para o estado M2, sendo o alelo ϵ 4 o menos eficaz na indução do estado M2. Aliás, algumas evidências referem mesmo que há um aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias na presença da ApoE4.⁴⁰

Na DA, as vias de ativação da microglia induzidas pelo peptídeo A β ainda não são totalmente conhecidas, no entanto, sugere-se o envolvimento de vários recetores, como o Scara I, integrina $\alpha\beta 1$, CD 36 e os recetores Toll-like (TLR) (Figura 3). Os mesmos cooperam no reconhecimento, internalização e depuração de A β e na ativação celular. O Scara I e o CD36 são recetores *scavenger* capazes de interagir com o peptídeo A β , considerado um DAMP, e provocar a sua captação. O CD36 forma complexos com outros PPRs, mais concretamente, forma o complexo CD36- $\alpha\beta 1$ -CD47 que reconhece o A β , internaliza-o em lisossomas e ativa a produção de ROS. Além do mais, após o reconhecimento de A β , por CD36, este torna-se co-recetor do TLR4 e TLR6, levando à formação do heterodímero CD36-TLR4-TLR6 e ativa a via de sinalização celular inflamatória do fator nuclear- kappa B (NF- κ B).^{41,42} O NF- κ B é um fator de transcrição que, em condições normais, se encontra no citoplasma sequestrado por uma proteína inibidora, o I κ B. A ligação do A β ao heterodímero desencadeia uma série de eventos que levam à fosforilação do I κ B e à sua consequente degradação pelo proteosoma, permitindo, assim, a libertação do NF- κ B e a sua translocação para o núcleo, onde se vai ligar a sequências específicas de DNA e promover a transcrição de genes que codificam mediadores pró-inflamatórios, nomeadamente citocinas pró-inflamatórias (TNF α , IL-1 β) e enzimas inflamatórias (iNOS e COX-2).⁴² A ativação do heterodímero induz a superexpressão de Scara I, contribuindo para uma maior depuração de A β . Apesar de desempenharem funções complementares, o CD36 e o Scara I interagem de forma diferente: o primeiro contribui para um estado inflamatório e para a neuroinflamação, causadas pela resposta da microglia ao A β , como já referido, enquanto que o segundo promove a degradação de A β mas, quando os processos de autofagia são ativados de uma forma contínua, a ação depuradora torna-se insuficiente.^{41,43}

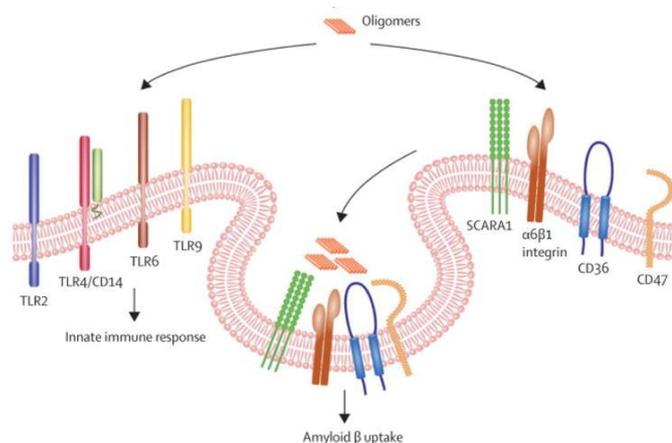


Fig. 3 - Interação dos agregados A β com os recetores da microglia. O CD36 interage com o A β , forma o complexo CD36- $\alpha\beta 1$ -CD47 e internaliza o peptídeo, levando à produção de ROS. O complexo CD3-TLR4-TLR6 ativa a via inflamatória do NF- κ B, contribuindo para neuroinflamação. Pelo contrário, o recetor scara I tem uma ação depuradora, que se torna insuficiente se a autofagia microglial for contínua. (Adaptado de)⁴⁴

Os astrócitos são as células gliais mais abundantes no SNC, onde desempenham importantes funções, como dar suporte bioquímico às células da BHE, fornecer nutrientes às células neuronais, auxiliar na libertação de neurotransmissores durante a transmissão sinática, regular o equilíbrio dos iões extracelulares e evitar a formação de lesões neuronais. Quando ativos, acumulam-se e rodeiam as placas senis, produzindo citocinas inflamatórias como o TNF α e o IFN γ , as quais induzem ativação e proliferação da microglia.

Sob influência de certas citocinas inflamatórias, os astrócitos são capazes de aumentar a atividade da BACE1, conduzindo, desta forma, a um aumento da produção de A β .⁴⁵

O TNF α e as IL-1 e 6 produzidas em elevada concentração pela microglia e astrócitos ativados, além de neurotóxicos, parecem estimular a produção de peptídeos A β , modulando o processamento da APP.⁴⁶

Em suma, a acumulação de peptídeos A β pode despoletar a ativação da microglia e astrócitos, conduzindo a neuroinflamação, a qual, por sua vez, leva a um aumento da produção e agregação dos peptídeos A β , gerando-se um ciclo vicioso.⁴⁵

1.5.3. Disfunção Mitocondrial

A mitocôndria é, não só responsável pela produção de ATP, fundamental para a função neuronal, como, também, desempenha um importante papel na regulação da homeostasia do cálcio intracelular, produção de espécies reativas de oxigénio e nitrogénio e regulação da sobrevivência e morte celular. Numerosos estudos demonstram que a disfunção mitocondrial desempenha um papel crucial na neurodegenerência que ocorre na doença de Alzheimer.⁴⁷

Efetivamente, estudos *postmortem* mostram, consistentemente, que os doentes com Alzheimer apresentam uma diminuição significativa da atividade do complexo IV (citocromo c oxidase) da cadeia transportadora de eletrões mitocondrial na região do hipocampo e do neocórtex, assim como, nas plaquetas e fibroblastos. A diminuição da atividade de outros complexos da cadeia respiratória, nomeadamente do complexo I (NADH-quinona oxidoreductase), tem sido, também, reportada, sendo, no entanto, mais controversa.^{47,48}

A APP e o A β podem formar um complexo com a translocase da membrana externa mitocondrial 40 (TOM40), e com a translocase da membrana interna 13 (TIM23) e, uma vez na matriz mitocondrial, podem afetar a atividade dos complexos da cadeia transportadora de eletrões, estando a sua acumulação relacionada com a redução da atividade do complexo IV.⁴⁸ Sugere-se também que a tau esteja relacionada com a redução da atividade do complexo I, mecanismo que ainda está a ser estudado.⁴⁷

Encontra-se igualmente documentado, que poderão estar envolvidos na redução da atividade do ciclo do ácido cítrico ao interagir com as suas principais enzimas, como a piruvato desidrogenase, isocitrato desidrogenase e α -cetoglutarato desidrogenase.⁴⁹

A inibição dos complexos da cadeia respiratória mitocondrial resulta, não só numa diminuição da produção de ATP, como também num aumento da produção de ROS, pela própria mitocôndria, podendo levar a uma situação de stresse oxidativo, como será discutido mais à frente.⁵⁰

O comprometimento da síntese de ATP pela mitocôndria, por sua vez, poderá levar a um fenómeno de excitotoxicidade e a uma perda da homeostasia do cálcio celular, condições verificadas na DA.⁵¹

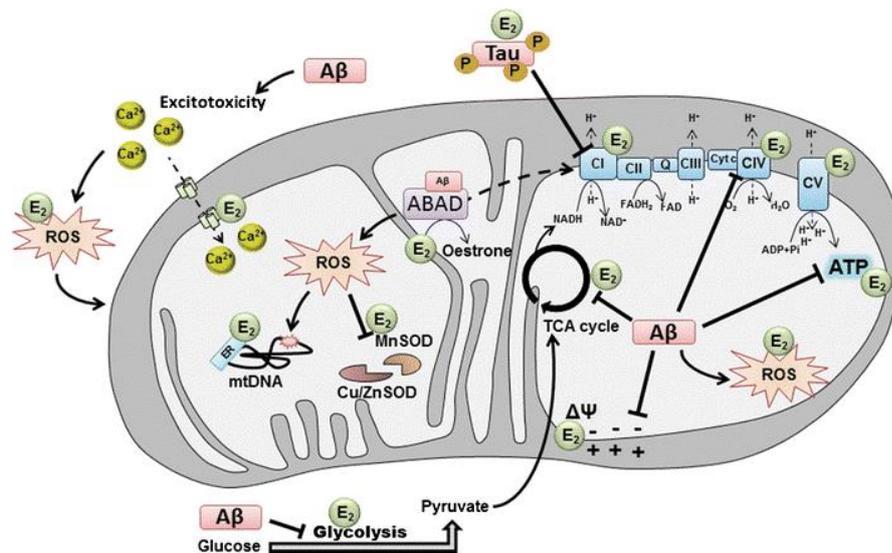


Fig. 4 - Disfunção mitocondrial causada por Aβ e tau hiperfosforilada. (Adaptado de)⁵

1.5.3.1. Excitotoxicidade

O glutamato é um importante neurotransmissor excitatório relacionado com o processo cognitivo e memória. É armazenado em vesículas no neurónio pré-sináptico e, quando ocorre despolarização, é libertado na fenda sináptica, ligando-se posteriormente aos seus recetores na célula pós-sináptica, ativando-os. Pode ligar-se a recetores ionotrópicos e metabotrópicos, estando os primeiros subdivididos em três tipos: AMPA (amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato) e cainato, permeáveis a Na^+ , e recetores NMDA (N-metil-D-aspartato), permeáveis principalmente a Ca^{2+} .⁵³ De forma a evitar uma estimulação excessiva, o glutamato é removido da fenda sináptica pelos astrócitos, através de um transportador localizado na membrana plasmática, o transportador de aminoácidos excitatórios (EAAT, do inglês *Excitatory Amino Acid Transporters*), onde é convertido em glutamina pela glutamina sintase.⁵⁴ Numa estimulação normal, a transmissão sináptica ocorre eficazmente. Contudo, uma

estimulação excessiva da sinalização por parte do glutamato resulta em influxos excessivos de cálcio e excitotoxicidade, o que poderá induzir dano neuronal.⁵³ Neste contexto, importa referir que, numa situação de deficiente produção de ATP, o glutamato pode tornar-se tóxico em concentrações que normalmente não exerceriam qualquer toxicidade. A este fenómeno damos o nome de excitotoxicidade secundária ou indireta.⁵⁵

Para o bom funcionamento da bomba de Na^+/k^+ ATPase, responsável pela manutenção do potencial membranar, e das Ca^{2+} ATPases, responsáveis pela homeostasia do cálcio celular, é fundamental ATP. Assim sendo, a disfunção da mitocôndria observada na DA e atrás discutida, e a consequente diminuição da produção de ATP, poderá levar à falência da bomba de Na^+/k^+ ATPase e à despolarização da membrana, seguida pela libertação do ião magnésio que se encontra a bloquear os recetores NMDA. Isto resulta numa ativação persistente destes recetores por níveis fisiológicos de glutamato, o que leva a um influxo prolongado de cálcio, o qual, associado ao mau funcionamento das Ca^{2+} ATPases devido à falta de ATP, resulta num grande aumento da concentração de cálcio intracelular, o qual vai ativar a sintase do óxido nítrico (NOS). O cálcio acumula-se também na mitocôndria onde vai aumentar a produção do radical superóxido e levar à ativação da NOS mitocondrial e à consequente produção de $\bullet\text{NO}$.^{53,55,56}

Adicionalmente, o cálcio promove a secreção de exossomas, responsáveis pela libertação de macromoléculas para os neurónios-alvo. Assim, na DA, o excesso de cálcio provoca o aumento da libertação das proteínas patogénicas.²⁵

Os oligómeros $\text{A}\beta$ parecem interferir na normal neurotransmissão do glutamato, ao diminuírem quer a expressão de proteínas pré-sinápticas como a sinaptotagmina, envolvidas no processo de fusão da vesícula sináptica, quer a capacidade do transportador glutamatérgico vesicular (VGluT) em armazenar o glutamato em vesículas.⁵⁷ Além disso, interferem também na remoção do glutamato da fenda sináptica para os astrócitos, realizada pelo transportador EAA,⁵⁴ levando a um aumento da concentração de glutamato na fenda, contribuindo para o fenómeno de excitotoxicidade.⁵⁷

1.5.4. Stresse Oxidativo

As ROS/RNS são atualmente reconhecidos moduladores redox de vias de sinalização celular, regulando uma série de processos, tais como, adaptação, proliferação, diferenciação, morte e sobrevivência celular. Contudo, quando a sua concentração aumenta na célula, o que pode acontecer devido a um aumento da sua produção e/ou diminuição dos antioxidantes,

desencadeia-se uma situação de stresse oxidativo com desregulação de vias de sinalização cruciais e modificações estruturais e, portanto, funcionais de diversas biomoléculas.^{58,59}

Existem fortes evidências de que o stresse oxidativo desempenha um importante papel na degenerescência e morte neuronal observada na DA. Efetivamente, na DA verifica-se um aumento da concentração de ROS/RNS, sendo a mitocôndria disfuncional, a NADPH oxidase e a sintase do óxido nítrico indutível (iNOS) as principais fontes de tais espécies reativas.^{57,58}

A maioria do oxigénio molecular consumido pelas células é utilizado na cadeia respiratória da mitocôndria, como aceitador final de eletrões. Em condições normais, cerca de 1-2%⁶⁰ do mesmo é reduzido ao radical anião superóxido ($O_2^{\bullet-}$) que, subsequentemente, dismuta a peróxido de hidrogénio (H_2O_2), de forma espontânea ou catalisada pela superóxido dismutase (SOD). O H_2O_2 é depois reduzido a água por ação da catalase e/ou da glutatião peroxidase.⁶¹ O H_2O_2 pode reagir com iões metálicos, como o Fe^{2+} ou o Cu^+ , formando-se o radical hidroxilo ($HO\bullet$), o qual é extremamente reativo.⁵⁹

A inibição da atividade do complexo IV e, potencialmente, do complexo I da cadeia respiratória mitocondrial, observada na DA, resultará num aumento significativo da produção de $O_2^{\bullet-}$ e de H_2O_2 .⁵⁰ Além do mais, a microglia ativada e os astrócitos reativos produzem, não só, uma elevada concentração de $O_2^{\bullet-}$, através da ativação de enzimas como a NADPH oxidase, como também uma elevada concentração de $\bullet NO$ durante longos períodos de tempo devido à ativação da iNOS.⁶⁰

O $\bullet NO$, em elevada concentração, compete eficazmente com a SOD e reage com o $O_2^{\bullet-}$, originando o ONOO- (peroxinitrito) que, apesar de não ser um radical livre, é uma espécie muito reativa, com elevada capacidade oxidante e nitrante, capaz de alterar a estrutura e funcionalidade de diversas biomoléculas como proteínas, lípidos e DNA, sendo portanto, extremamente nefasta para a célula.^{60,61} No cérebro de doentes com Alzheimer é possível observar uma elevada imunoreatividade contra a 3-nitrotirosina um marcador da formação de ONOO-.⁶²

Efetivamente, o ONOO- inibe o complexo I e IV da cadeia respiratória mitocondrial e a ATP sintase, o que, não só compromete a síntese de ATP, mas, também, ocasiona um aumento da produção mitocondrial de ROS.⁶⁰ A nitração do resíduo de tirosina 34 da SOD dependente de manganésio (MnSOD) pelo ONOO-, resulta na sua inativação e, conseqüentemente, leva, também, a um aumento da concentração de $O_2^{\bullet-}$.⁶³

Um outro alvo do ONOO-, localizado na mitocôndria é o citocromo c. O ONOO- oxida diretamente o citocromo c, sendo este, posteriormente, nitrado por intermédio de radicais livres resultantes do metabolismo do ONOO-. O citocromo c nitrado ganha uma nova função de peroxidase e oxida a cardiolipina, na membrana interna da mitocôndria, facilitando, desta forma, a libertação do citocromo c nativo para o citosol, despoletando assim a morte celular. Encontra-se igualmente bem documentado a abertura do poro de permeabilidade transitória mitocondrial pelo ONOO- e a consequente libertação de proteínas apoptóticas para o citosol.⁶⁴

O ONOO- parece, também, aumentar a permeabilidade da BHE, facilitando a passagem de substâncias potencialmente tóxicas.⁶⁵

Proteínas importantes no metabolismo energético mitocondrial, como a creatina cinase, a glutamina sintetase, o gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase e piruvato desidrogenase também podem sofrer oxidação. Como consequência, ocorre uma diminuição na produção de ATP e perturbações na sinalização mediada por glutamato, contribuindo para a diminuição do metabolismo energético e excitotoxicidade.⁴⁹

Além das proteínas, também, os lípidos constituem importantes alvos para diferentes espécies reativas.

A peroxidação lipídica refere-se a uma cascata de eventos bioquímicos resultantes da ação de uma espécie reativa sobre os ácidos gordos polinsaturados das membranas celulares gerando radicais livres que alteram a permeabilidade, fluidez e integridade das mesmas.⁶⁶

Durante esta degradação oxidativa, formam-se produtos, nomeadamente, 4-hidroxi nonenal (4-HNE). Diversos estudos mostram uma elevada concentração de 4-HNE no cérebro de doentes com Alzheimer, em particular, nas placas senis.

O 4-HNE forma aductos com algumas proteínas levando a uma alteração da sua estrutura e atividade. Neste contexto, o 4-HNE parece ter capacidade de modificar covalentemente o peptídeo A β , despoletando a sua agregação.⁶⁷

Adicionalmente, *Tamagno et al.* através de um estudo *in vivo*, demonstrou que um aumento da peroxidação está associado a um aumento da produção de A β ⁴⁸. Tal poderá acontecer pois, o 4-HNE modifica covalentemente a BACE1 e a γ -secretase, originando espécies tóxicas de A β .⁶⁸

Um outro mecanismo aparentemente importante na fisiopatologia da DA, e que está relacionado com a geração de stresse oxidativo, é a acumulação de iões metálicos como o Cu, Zn e Fe nas placas senis, onde formam complexos com o A β .⁶⁹

Tal como referido anteriormente, o H₂O₂, através de uma reação catalisada por Fe²⁺ ou outros metais de transição, pode ser reduzido a •OH, contribuindo para o aumento do stresse oxidativo no SNC. A ligação destes iões a fragmentos A β leva à formação de agregados tóxicos.⁶⁹

1.5.5. Disfunção vascular

O bom funcionamento cerebral depende do acoplamento preciso entre a atividade neuronal e o fluxo sanguíneo cerebral (FSC) associado às necessidades metabólicas. Trata-se de um mecanismo complexo designado por acoplamento neurovascular, que permite ajustar localmente o FSC às necessidades metabólicas impostas pela ativação neuronal. Ou seja, em zonas com maior atividade neuronal, ocorre um aumento local e transitório do FSC de modo a fornecer oxigénio e glucose necessários à atividade neuronal e remover os resíduos tóxicos resultantes desta atividade.⁷⁰

O acoplamento neurovascular envolve uma complexa e concertada comunicação entre os vários tipos de células que formam a chamada unidade neurovascular e que incluem as células endoteliais cerebrovasculares, que formam a BHE, pericitos, células da glia e neurónios.⁷¹

Embora os mecanismos subjacentes ao acoplamento neurovascular não se encontrem ainda completamente esclarecidos, evidências crescentes indicam que o glutamato desempenha um papel importante neste processo. A ligação do glutamato aos seus recetores, quer nos neurónios quer nos astrócitos, resulta na produção de moléculas que promovem a vasodilatação e o conseqüente aumento do FSC. Uma dessas moléculas é o •NO. Nos neurónios, a ativação do recetor NMDA pelo glutamato, provoca um influxo de Ca²⁺, o qual se liga à calmodulina ativando a NOS neuronal (nNOS), ocorrendo, conseqüentemente, a produção de NO, o qual pode difundir até aos vasos sanguíneos vizinhos e promover vasodilatação (Figura 5).^{72,73}

Diversos estudos têm demonstrado que uma disfunção cerebrovascular e um acoplamento neurovascular alterado desempenham um papel crítico na neurodegeneração e no declínio cognitivo observados na DA, não se sabendo, contudo, se serão uma causa ou conseqüência da doença.⁴⁴

Uma redução da perfusão cerebral provoca um decréscimo do fornecimento de oxigênio e glicose às células neuronais, causando um déficit energético que compromete as funções cerebrais e desencadeia danos que podem ser permanentes. Essa redução pode ser provocada pela A β . Níveis aumentados de A β em modelos animais de AD estão associados a um menor FSC em repouso e a um comprometimento do acoplamento neurovascular.⁷⁰

Adicionalmente, a produção exacerbada e descontrolada de ROS/RNS que ocorre na DA desempenhará um papel central na disfunção do acoplamento neurovascular. Neste contexto, o peptídeo A β parece induzir a produção de ROS/RNS na vasculatura previamente ao parênquima cerebral.⁷¹

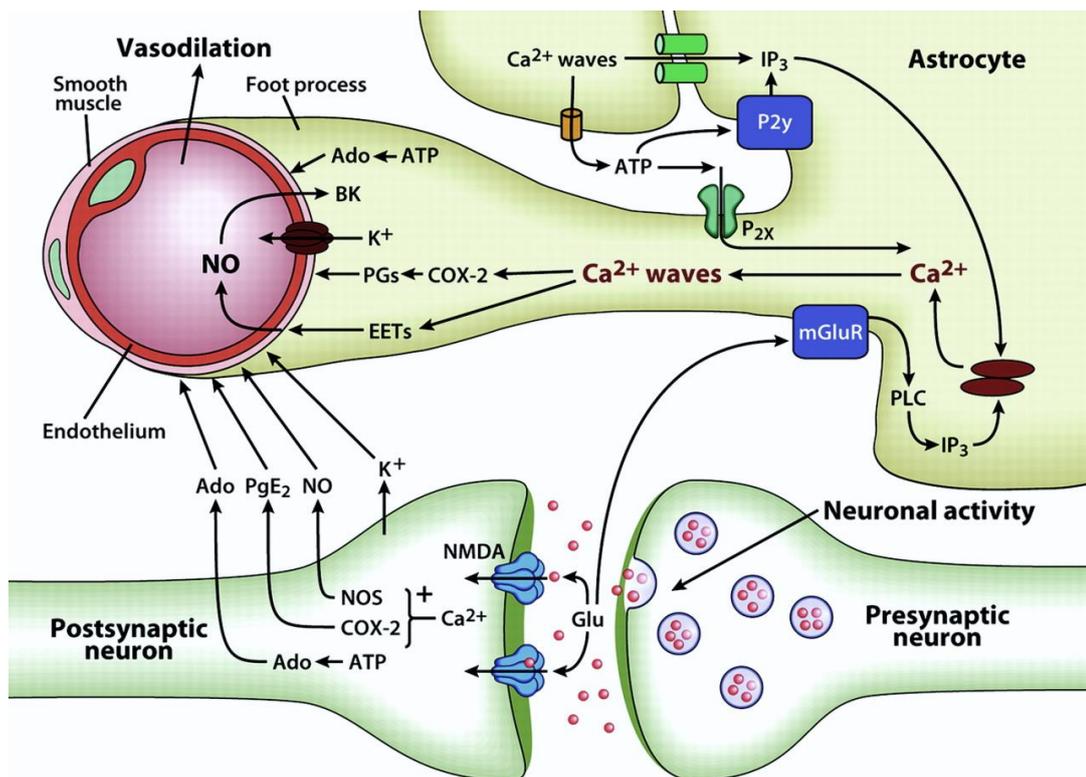


Fig. 5 - Papel do glutamato no acoplamento neurovascular. (Adaptado de)⁷³

A produção de O $2^- \cdot$ pela NADPH oxidase tem sido apontada como uma possível responsável pelo anormal acoplamento neurovascular na DA, O O $2^- \cdot$ ao reagir rapidamente com o \cdot NO diminui a sua biodisponibilidade, impedindo, assim, a sua ação vasodilatadora.⁷²

Quando ocorrem lesões cerebrovasculares, verifica-se uma disfunção da BHE, que se traduz na acumulação de A β e outras moléculas tóxicas no cérebro e uma hipoperfusão que, quando crónica, é conhecida por oligemia, e leva a um ciclo de eventos lesivos que prejudicam a síntese proteica neuronal e, conseqüentemente, a plasticidade sinática.⁷¹

As alterações vasculares e os distúrbios metabólicos, estão então relacionados e, em conjunto, contribuirão para a degeneração e morte neuronal que ocorre na DA.

1.5. Terapêutica Existente

A DA tem sido intensivamente estudada pela comunidade científica. Contudo, a terapia farmacológica atualmente implementada não é curativa, tendo, essencialmente como objetivos, melhorar os sintomas, proporcionando ao doente uma melhor qualidade de vida, e atrasar a progressão da doença.⁷⁴

Para manifestações como agitação, depressão e ansiedade que não são específicas da DA, utilizam-se fármacos como antipsicóticos, antidepressivos e ansiolíticos. Já para os sintomas relacionados com a disfunção cognitiva, são utilizados fármacos especificamente aprovados para a DA, três pertencentes à classe dos inibidores da acetilcolinesterase (donepezilo, rivastigmina e galantamina), os quais impedem a destruição da acetilcolina, permitindo maior transmissão colinérgica durante a sinapse neuronal; e um antagonista dos recetores NMDA (memantina), que se liga a estes, bloqueando a sua ativação pelo glutamato, prevenindo, assim, a sua neurotoxicidade.⁷⁵

Do exposto, resulta claro, a importância do desenvolvimento de novas estratégias capazes de eficazmente prevenir e/ou tratar a DA.

Para além de fármacos sintéticos que estão em avaliações pré-clínicas e clínicas com potencial para interferirem na progressão da DA, alguns compostos naturais, como os polifenóis presentes na dieta humana, têm despertado o interesse da comunidade científica graças às suas propriedades e o modo como podem intervir no tratamento desta patologia.⁷⁶

2. Polifenóis

Os polifenóis são metabolitos secundários das plantas, os quais desempenham um papel crucial na sua proteção de agentes externos, nomeadamente, fungos, bactérias e fatores de stresse ambiental, estando ainda envolvidos em processos como a pigmentação, crescimento e reprodução.⁷⁷

Encontram-se amplamente distribuídos no reino vegetal, sendo abundantes nalguns alimentos que fazem parte da dieta humana, como frutos, vegetais, azeite, vinho tinto, chá e cacau.⁹

Em relação à sua estrutura química, os polifenóis são constituídos por pelo menos um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilo e são classificados essencialmente em flavonóides e não flavonóides.⁷⁸ Os flavonóides têm uma estrutura C6-C3-C6 que consiste em dois anéis

aromáticos (A e B) ligados através de três carbonos que geralmente formam um heterociclo oxigenado (anel C). Com base no grau de insaturação e oxidação do seu heterociclo, os flavonóides podem ser subdivididos em várias subclasses, incluindo flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanonas, flavan-3-ol e antocianidinas. O grupo dos não-flavonóides inclui compostos polifenólicos com diferentes estruturas, tais como estilbenos (C6-C2-C6), ácidos fenólicos (C6-C1) e linhanos (C6-C3-C3-C6).⁷⁹

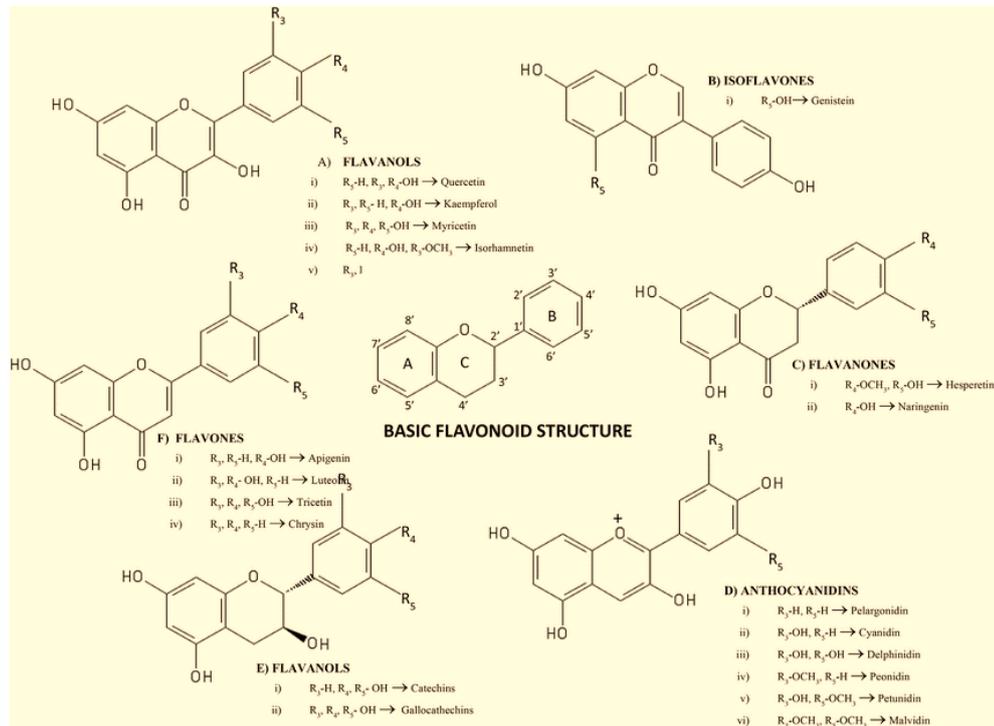


Fig. 6 - Estrutura química dos polifenóis da dieta. (Adaptado de)⁷⁹

Na natureza, os polifenóis existem principalmente na forma glicosilada, conjugados com um ou mais açúcares. Quando não ligados a açúcares, os polifenóis são referidos como agliconas.⁸⁰

2.1. Modulação dos mecanismos moleculares associados à DA por polifenóis da dieta

Diversos estudos, sugerem fortemente que os polifenóis podem ser úteis na prevenção/tratamento de diversas doenças crônicas associadas à inflamação e stresse oxidativo, incluindo doenças neurodegenerativas, como a DA.

Embora, os efeitos benéficos dos polifenóis tenham sido, inicialmente, atribuídos às suas propriedades antioxidantes, observadas *in vitro*, a intensa metabolização que sofrem no organismo e a sua baixa biodisponibilidade, tornaram evidente, a baixa probabilidade destes compostos fenólicos poderem atuar como antioxidantes diretos *in vivo*. Neste contexto, atualmente, os efeitos benéficos dos polifenóis têm sido atribuídos essencialmente à sua

capacidade de modular vias de sinalização celular, incluindo cascatas inflamatórias, e a expressão de genes. A modulação da sinalização celular pelos polifenóis parece relacionar-se com a sua capacidade de regular o estado redox da célula e estabelecer interações específicas com lípidos e, também, com proteínas como enzimas, recetores e fatores de transcrição.⁷⁸

Vários ensaios clínicos foram realizados com o intuito de avaliar os potenciais efeitos benéficos de polifenóis na DA, tendo sido utilizados biomarcadores desta doença, incluindo a acumulação do peptídeo A β e da proteína tau, a presença do genótipo APOE4 e marcadores de stresse oxidativo.⁹

Estes estudos evidenciaram, nomeadamente, a capacidade de alguns polifenóis inibirem a formação dos agregados proteicos e/ou estimularem a sua desagregação, através da interação com proteínas ou metais.^{81,82}

De seguida, serão abordados e discutidos os mecanismos de proteção exibidos por alguns polifenóis na DA.

2.1.1. Quercetina

A quercetina é um flavonol presente em muitos alimentos da dieta humana, incluindo amendoins, soja, maçãs, cebolas e vinho tinto, encontrando-se maioritariamente na forma glicosilada.⁸³ Apareta atuar em vários mecanismos envolvidos na DA, apesar de alguns ainda não estarem devidamente documentados. De seguida, abordar-se-á a sua interação com a A β , BACE1, Nrf2 e CYP3A4.

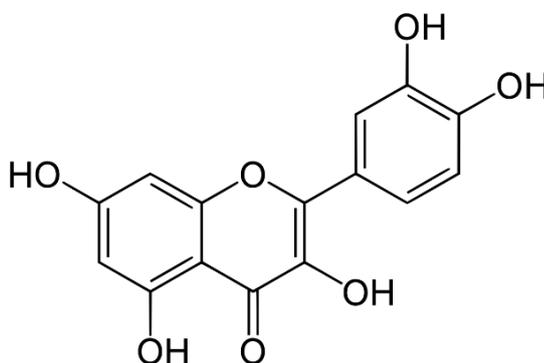


Fig.7 - Estrutura da Quercetina. (Adaptado de)⁸⁰

Inibição da agregação de A β

Estudos *in vitro* sugerem que a quercetina, devido aos grupos funcionais OH presentes no anel B, inibe a agregação das fibrilas de A β , através das interações hidrofóbicas e ligações de hidrogénio que estabelece com estas.⁸³

Inibição da BACE1

Outro mecanismo protetor atribuído à quercetina é a inibição da enzima BACE1, inibindo, desta forma, a clivagem da APP na zona β , prevenindo a formação de $A\beta$.⁸³

Ativação do Nrf2

Pensa-se que a quercetina consegue aumentar os níveis de glutatião (GSH) nos astrócitos e neurónios, contribuindo para a diminuição do stresse oxidativo.⁶⁹ O *nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2* (Nrf2) é um fator de transcrição que regula a expressão de genes que codificam enzimas antioxidantes e citoprotetoras. Em condições fisiológicas, o Nrf2 é sequestrado no citoplasma por um repressor, a proteína do tipo *Kelch* associada à proteína epicloridrina tipo I (Keap I). Vários estímulos, incluindo, compostos com propriedades pró-oxidantes ou eletrofílicas e ROS, promovem a dissociação do complexo Nrf2-KeapI, permitindo a translocação do Nrf2 para o núcleo, onde se liga a elementos de resposta antioxidante (ARE) e, promove a transcrição de genes antioxidantes. A via Nrf2-ARE controla assim a produção de proteínas como a heme oxigenase I e glutatião peroxidase, e fornece neuroproteção. A quercetina demonstrou funcionar como um antioxidante indireto, ao aumentar as defesas antioxidantes celulares por ativação da via do Nrf2.⁸⁴

Inibição da CYP3A4

Um estudo realizado pela *Kakatiya University*, observou o efeito da interação entre a quercetina e a rivastigmina.⁸⁵ Como já mencionado, a rivastigmina é um pseudo-inibidor da acetilcolinesterase, e um dos fármacos utilizados na terapêutica da Alzheimer.⁸⁶ Contudo, a sua biodisponibilidade é reduzida pelas enzimas CYP, quando há passagem pelo fígado e intestino. Verificou-se que a quercetina inibe competitivamente a CYP3A4, o que significa que a sua administração conjunta com a rivastigmina melhora a biodisponibilidade e eficácia terapêutica deste fármaco, assim como a sua tolerabilidade, pois sozinha provoca alguns efeitos secundários.⁸⁵

2.1.3. Curcumina

A curcumina está presente no rizoma ou raiz da *Curcuma Longa* e é muito utilizada na cozinha como especiaria e corante alimentar. Em diversos países, é usada na terapia de algumas patologias, verificando-se uma menor prevalência de determinadas doenças, incluindo a DA, nesses locais.⁸⁷

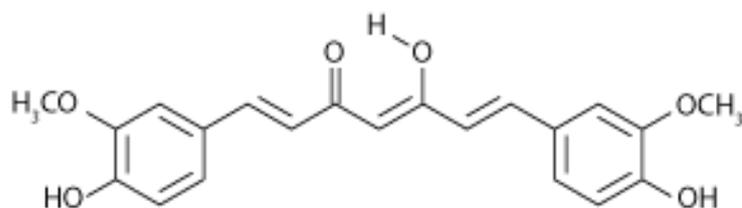


Fig. 8 - Estrutura da Curcumina. (Adaptado de)⁸⁸

Vários estudos têm demonstrado que a curcumina consegue, não só, diminuir a expressão de BACE1 e de PSI, impedindo a clivagem da APP pela via amiloidogénica, como também interagir com os anéis aromáticos dos oligómeros durante o processo de agregação, impedindo as interações necessárias para finalizar a formação das placas senis. A curcumina, também, parece ter capacidade de prevenir a hiperfosforilação da proteína tau ao inibir a GSK-3, mencionada anteriormente, impedindo que esta enzima adicione grupos fosfatos aos aminoácidos serina e treonina, constituintes da proteína tau, regulando a sua fosforilação.⁸⁷

Para além disso, a curcumina parece aumentar a expressão génica da HSP70, chaperona fundamental da via ubiquitina-proteassoma, que promove a ubiquitinação de agregados proteicos tóxicos. Assim, verifica-se uma redução dos oligómeros característicos da DA.⁸⁹

Demonstra também ter capacidade quelante, formando produtos estáveis com iões metálicos, nomeadamente com alumínio, Al³⁺. Num estudo *in vivo* realizado por Pooja Khanna Sood, Uma Nahar e Bimla Nehru da *Panjab University*, observou-se que, quando o alumínio era administrado sozinho, havia uma redução da atividade dos complexos I, II e IV das mitocôndrias presentes no cérebro de ratos, enquanto a administração conjunta de alumínio e curcumina normalizou significativamente a atividade dos mesmos complexos. A curcumina atenuou, assim, a disfunção mitocondrial induzida pelo alumínio, sendo um promissor agente terapêutico contra os efeitos adversos induzidos por este ião metálico, que contribuem para a patologia da DA.⁸⁹

A poderosa ação anti-inflamatória da curcumina encontra-se claramente comprovada pela:

- 1- Capacidade em, tal como a quercetina, ativar a via do Nrf2;⁸⁹
- 2- Inibição da fosforilação e degradação da IKB, impedindo a ativação do NF-kB, mecanismo envolvido na neuroinflamação observada na DA;⁴²
- 3 - Modulação da resposta inflamatória da microglia. Atenua a inflamação crónica aberrante (fenótipo M1) e estimula um estado anti-inflamatório (fenótipo M2). Sugere-se que interfere

com a formação do complexo TLR4-TL6, inibindo o fator NF-kB e, portanto, regulando negativamente a liberação de citocinas pró-inflamatórias.⁹⁰

2.1.2. Resveratrol

O resveratrol é um polifenol pertencente à classe dos estilbenos que se encontra principalmente nas uvas, vinho tinto e bagas de frutos vermelhos. Vários estudos têm demonstrado um nível de segurança e tolerabilidade elevado. Embora numa baixa concentração, consegue atravessar a BHE, estando a ser estudado o seu papel nas doenças neurodegenerativas como a doença Alzheimer.^{17,81}

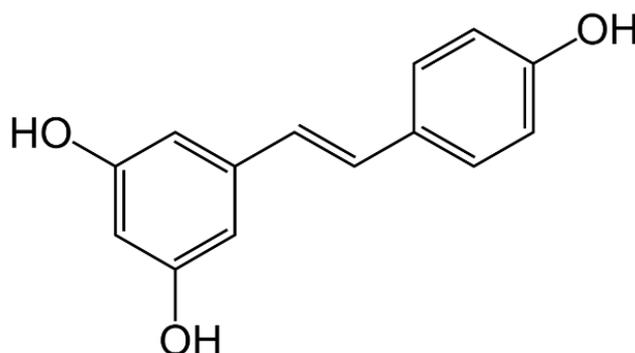


Fig. 9 - Estrutura do Resveratrol. (Adaptado de)⁹¹

O resveratrol é um forte ativador da SIRT1 a qual, tal como referido anteriormente, desempenha um importante papel na prevenção da formação de oligómeros de A β e na degradação proteosomal da proteína tau. Apesar de o mecanismo ainda não ser conhecido, acredita-se que é através do anel hidroxilado do resveratrol que ocorre a ativação da SIRT1.⁹²

Assim como a curcumina, inibe a ativação da via do NF-kB nas células microgliais e astrócitos, impedindo a degradação do IKB. Em alguns estudos, o resveratrol, de maneira dose-dependente, reduziu a expressão de iNOS e COX-2.⁹³

O resveratrol tem sido estudado devido à proteção endotelial que confere aos grandes vasos, durante o envelhecimento e em patologias como a DA, tendo-se constatado que aumenta a biodisponibilidade do •NO e inibe a NADPH oxidase. A *University of Oklahoma Health Sciences Center* testou o poder terapêutico do resveratrol em murganhos idosos, verificando se este atua no endotélio vascular cerebral da mesma maneira que atua nos grandes vasos. Concluíram que o tratamento com o resveratrol restaurou o acoplamento neurovascular e aumentou a dilatação vascular cerebral, diminuindo o stresse oxidativo e nitrativo.⁹⁴

2.1.4. Epigalocatequina-3-galato

As catequinas encontram-se em elevada concentração no chá verde. Estudos *in vivo* realizados em murganhos, mostraram que um chá rico em catequinas diminuiu os inibidores da Ach, havendo uma melhoria na capacidade de aprendizagem e memória em doentes com DA.⁹⁵

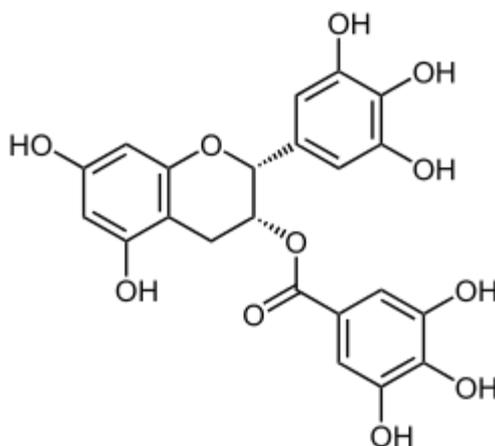


Fig. 10 - Estrutura da epigalocatequina-3-galato (EGCG). (Adaptado de)⁹⁶

A epigalocatequina-3-galato (EGCG) é a catequina com maior poder antioxidante e anti-inflamatório.⁹⁶

Interage com o núcleo hidrofóbico da A β , regulando a sua toxicidade.⁹⁷ Além do mais, aumenta a forma madura de ADAM10, uma α -secretase, e, portanto, a sua atividade, promovendo a via proteolítica não amiloidogénica.⁹⁸

Em ensaios clínicos, demonstrou aumentar a atividade da SOD e da catalase, duas enzimas antioxidantes.⁹⁶ A EGCG aumenta, também, a síntese de GSH, ao aumentar a expressão do glutamato cisteína ligase, enzima que catalisa o primeiro passo da síntese de glutationa.⁹⁹

Para além disso, quando administrada a murganhos com DA, verificou-se um efeito benéfico nas mitocôndrias, havendo uma estabilização da atividade da cadeia transportadora de eletrões. Contudo, o mecanismo de ação da EGCG ainda está a ser investigado.¹⁰⁰

Em suma, os polifenóis da dieta, têm a capacidade de modular diversos mecanismos relevantes no desenvolvimento da DA, sendo, desta forma, considerados moléculas promissoras para futura utilização na prevenção e tratamento desta doença.

A seguinte figura (Figura 11) resume o modo de ação de alguns destes compostos fenólicos.

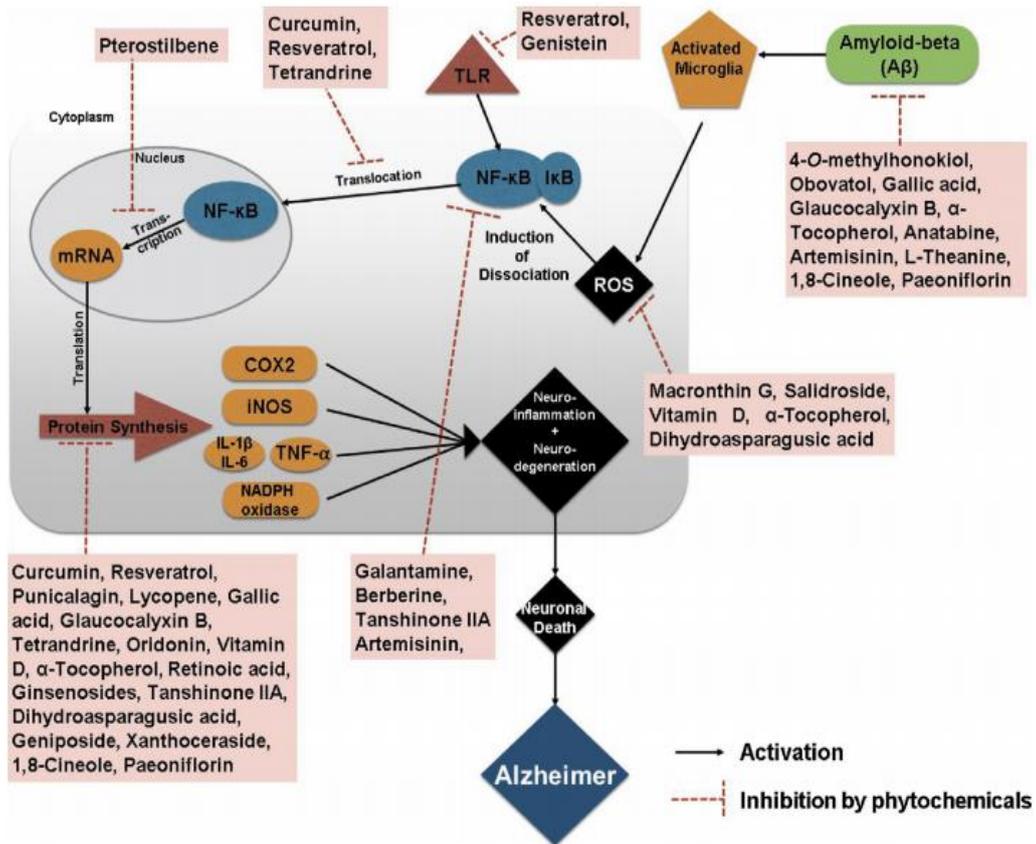


Fig. 11 - Modulação dos mecanismos associados à DA por polifenóis da dieta.⁴²

3. Conclusão

A presente monografia teve como objetivo principal resumir alguns dos mecanismos moleculares subjacentes à DA e a sua modulação por polifenóis presentes na dieta humana.

A vida e o quotidiano das pessoas que sofrem de Alzheimer muda radicalmente a partir do momento que a doença se manifesta, e a terapêutica farmacológica aplicada atualmente é claramente limitada e ineficaz. É, portanto, urgente, o desenvolvimento de novas estratégias que previnam e/ou inibam a degeneração e morte neuronal que ocorre na doença de Alzheimer.

A capacidade de os polifenóis modularem vias de sinalização cruciais envolvidas em processos fisiopatológicos e a expressão de genes, bem como, de interagirem com o peptídeo A β , reforçam o caráter promissor destes compostos fenólicos como complementos da terapia existente, potenciando a ação de substâncias ativas que sozinhas não conseguem exercer o efeito pretendido, e abrem caminho para o desenvolvimento de estratégias inovadoras capazes de eficazmente prevenir e/ou tratar a DA.

No entanto, apesar dos benefícios descritos dos polifenóis, os mecanismos moleculares de atuação não se encontram ainda completamente esclarecidos. Para além disso, a maior parte destes compostos fenólicos tem uma baixa biodisponibilidade e apresentam uma capacidade limitada em atravessar a BHE, o que poderá constituir uma importante limitação à sua utilização e eficácia no contexto das doenças neurodegenerativas. É necessário, pois, continuar a apostar na investigação, estudar maneiras de combater estas limitações, o que pode passar, por exemplo, pelo *design* de sistemas de entrega destes compostos diretamente no SNC.

4. Referências Bibliográficas

¹ASSOCIAÇÃO ALZHEIMER PORTUGAL - **Doença de Alzheimer - Diagnóstico**. [Acedido a 30 de maio de 2019]. Disponível na internet: <http://alzheimerportugal.org/pt/text-0-9-33-34-sinais-de-alerta-para-um-diagnostico-precoce>

²BATURE, F., GUINN, B., PANG, D., PAPPAS, Y. - **Signs and symptoms preceding the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic scoping review of literature from 1937 to 2016**. *BMJ Open*, 7:8 (2017) 1-9.

³NOBAKHT, M., HOSEINI, S.M., MORTAZAVI, P., SOHRABI, I., ESMAILZADE, B., ROOSH, N.R., OMIDZAHIR, S. - **Neuropathological Changes in Brain Cortex and Hippocampus in a Rat Model of Alzheimer's Disease**. *Iranian Biomedical Journal*, 15:1-2 (2011) 51-58.

⁴LISTA, S., O'BRYANT, S.E., BLENNOW, K., DUBOIS, B., HUGON, J., ZETTERBERG, H., HAMPEL, H. - **Biomarkers in Sporadic and Familial Alzheimer's Disease**. *Journal of Alzheimer's Disease*, 47 (2015) 291-317.

⁵EDWARDS, G., GAMEZ, N., ESCOBEDO, G., CALDERON, O., MORENO-GONZALEZ, I. - **Modifiable Risk Factors for Alzheimer's Disease**. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 146-11 (2019) 1-18.

⁶WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Dementia**. [Acedido a 16 de agosto de 2019]. Disponível na internet: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>

⁷ASSOCIAÇÃO ALZHEIMER PORTUGAL - **Doença de Alzheimer - Prevalência**. [Acedido a 12 de agosto de 2019]. Disponível na internet: <http://alzheimerportugal.org/pt/text-0-9-106-349-prevalencia-da-demencia>

⁸CREWS, L.; MASLIAH, E. - **Molecular mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease**. *Human Molecular Genetics*, 15 (2010) 12-20.

⁹COLIZZI, C. - **The protective effects of polyphenols on Alzheimer's disease: A systematic review**. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 5 (2019) 184-196.

¹⁰CRAIG, D., MIRAKHUR, A., HART, D.J., MCLLROY, S.P., PASSMORE, A.P. - **A cross-sectional study of neuropsychiatric symptoms in 435 patients with Alzheimer's disease**. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 13 (2005) 460-468.

¹¹RINGMAN, J.M., LIANG, L.J., ZHOU, Y., VANGALA, S., TENG, E., KREMEN, S., WHARTON, D., GOATE, A., MARCUS, D.S., GHETTI, B., MCDADE, E., MASTERS, C.L., MAYEUX, R.P., ROSSOR, M., SALLOWAY, S., SCHOFIELD, P.R., CUMMINGS, J.L., BUCKLES, V., BATEMAN, R., MORRIS, J.C.- **Early behavioural changes in familial Alzheimer's disease in the Dominantly Inherited Alzheimer Network.** Brain, 138 (2015) 1036-1045.

¹²HEALTHLINE - **Life Expectancy and Long-Term Outlook for Alzheimer's Disease.** [Acedido a 23 de julho de 2019]. Disponível na internet: <https://www.healthline.com/health/alzheimers-disease/life-expectancy>

¹³FONDATION VAINCRE ALZHEIMER - **Mécanismes et secrets de la maladie d'Alzheimer.** [Acedido a 30 de maio de 2019]. Disponível na internet: <https://www.vaincrealzheimer.org/2013/12/16/mecanismes-et-secrets-de-la-maladie-dalzheimer/>

¹⁴NATIONAL INSTITUTE ON AGING - **Alzheimer's Scientific Images and Video.** [Acedido a 14 de julho de 2019]. Disponível na internet: <https://www.nia.nih.gov/alzheimers/alzheimers-scientific-images-and-video>

¹⁵LANE, C.A., HARDY, J., SCHOTT, J.M. - **Alzheimer's disease.** European Journal of Neurology. 25 (2017) 59-70.

¹⁶MÜLLER, U.C., DELLER, T., KORTE, M. - **Not just amyloid: physiological functions of the amyloid precursor protein family.** Nature Reviews Neuroscience, 18:5 (2017) 281-298.

¹⁷SAWDA, C., MOUSSA, C., TURNER, R.S. - **Resveratrol for Alzheimer's disease.** Annals of The New York Academy of Sciences, 1403 (2017) 142-149.

¹⁸VINTERS, H. V. - **Cerebral amyloid angiopathy. A critical review.** Progress Review, 18:2 (1987) 311-324.

¹⁹KUMAR, A., SINGH, A., EKAVALI. - **A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update.** Pharmacological Reports, 67:2 (2015) 195–203.

²⁰LEE, J.C., KIM, S.J., HONG, S., KIM, Y. - **Diagnosis of Alzheimer's disease utilizing amyloid and tau as fluid biomarkers.** Experimental & Molecular Medicine, 51:53 (2019) 1-10.

- ²¹CHONG, F.P., NG, K.Y., KOH, R.Y., CHYE, S.M. - **Tau Proteins and Tauopathies in Alzheimer's Disease**. Cellular and Molecular Neurobiology, 38:5 (2018) 965-980.
- ²²SPILLANTINI, M.G.; GOEDERT, M. - **Tau protein pathology in neurodegenerative diseases**. Trends Neuroscience, 21 (1998) 428-433.
- ²³DOS SANTOS PICANÇO, L.C., OZELA, P.F., BRITO, M., PINHEIRO, A.A., PADILHA, E.C., BRAGA, F.S., SILVA, C.H., SANTOS, C.B., ROSA, J.M., HAGE-MELIM, L.I. - **Alzheimer's disease: A review from the pathophysiology to diagnosis, new perspectives for pharmacological treatment**. Current medicinal chemistry, 25 (2018) 3141-3159.
- ²⁴PENKE, B., BOGAR, F., FÜLÖP, L.- **β -Amyloid and the Pathomechanisms of Alzheimer's Disease: A Comprehensive View**. Molecules, 22:10 (2017) 1-32.
- ²⁵LIANG, J., KULASIRI, D., SAMARASINGHE, S. - **Ca²⁺ dysregulation in the endoplasmic reticulum related to Alzheimer's disease: A review on experimental progress and computational modeling**. Biosystems, 134 (2015) 1-15.
- ²⁶THENMOZHI, A.J., MANIVASAGAM, T., ESSA, M.M. - **Role of Plant Polyphenols in Alzheimer's Disease**. Advances in Neurobiology. 12 (2016) 153-71
- ²⁷ALZHEIMER'S ASSOCIATION - **Down Syndrome and Alzheimer's Disease**. [Acedido a 4 de agosto de 2019]. Disponível na internet: <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/what-is-dementia/types-of-dementia/down-syndrome>
- ²⁸KANEKIYO, T., XU, H., BU, G.- **ApoE and A β in Alzheimer's disease: accidental encounters or partners?**. Neuron, 81:4 (2019) 740-754.
- ²⁹RIES, M., SASTRE, M. - **Mechanisms of A β Clearance and Degradation by Glial Cells**. Frontiers in Aging Neuroscience, 8:160 (2016) 1-9.
- ³⁰SIMONOVITCH, S., SCHMUKLER, E., BESPALCO, A., IRAM, T., FRENKEL, D., HOLTZMAN, D.M., MASLIAH, E., MICHAELSON, D.M, PINKAS-KRAMARSKI, R. - **Impaired Autophagy in APOE4 Astrocytes**. Journal of Alzheimer's Disease, 51:3 (2016) 915-927.
- ³¹POKSAYA, K.S., ZHANGA, Q., CAILINGA, G., HARTB, M., JOHNA, V., RAOA, R.V., BREDESENA, D.E.- **Neuroprotective Sirtuin ratio reversed by ApoE4**. Proceedings of the National Academy of Sciences, 110:45 (2013) 18303-18308.

- ³²GOMES, B.A.Q., SILVA, J.P.B., ROMEIRO, C.F.R., DOS SANTOS, S.M., RODRIGUES, C.A., GONÇALVES, P.R., MONTEIRO, M.C. - **Neuroprotective Mechanisms of Resveratrol in Alzheimer's Disease: Role of SIRT1**. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018 (2018) 1-15.
- ³³THEENDAKARA, V., PETERS-LIBEU, C.A., BREDESEN, D.E., RAO, R.V. - **Transcriptional Effects of ApoE4: Relevance to Alzheimer's Disease**. *Molecular Neurobiology*, 55:6 (2018) 5243-5254.
- ³⁴SOCHOCKA, M., DINIZ, B.S., LESZEK, J. - **Inflammatory Response in the CNS: Friend or Foe?**. *Molecular Neurobiology*, 54:10 (2017) 8071-8089.
- ³⁵FAKHOURY, M. - **Microglia and Astrocytes in Alzheimer's Disease: Implications for Therapy**. *Current Neuropharmacology*, 16:5 (2018) 508-518.
- ³⁶CHEN, L., DENG, H., CUI, H., FANG, J., ZUO, Z., DENG, J., LI, Y., WANG, X., ZHAO, L. - **Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs**. *Oncotarget*, 9:6 (2018) 7204-7218.
- ³⁷NEWTON, K., DIXIT, V. - **Signaling in Innate Immunity and Inflammation**. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4:3 (2012) 1-19.
- ³⁸MCDONALD, C.L., HENNESSY, E., RUBIO-ARAIZ, A., KEOGH, B., MCCORMACK, W., MCGUIRK, P., REILLY, M., LYNCH, M.A. - **Inhibiting TLR2 activation attenuates amyloid accumulation and glial activation in a mouse model of Alzheimer's disease**. *Brain, Behavior, and Immunity*, 58 (2016) 191-200.
- ³⁹NAZEM, A., SANKOWSKI, R., BACHER, M., AL-ABED, Y. - **Rodent models of neuroinflammation for Alzheimer's disease**. *Journal of Neuroinflammation*, 12:74 (2015) 1-15.
- ⁴⁰FERNANDEZ, C., HAMBY, M., MCREYNOLDS, M.L., RAY, W.J. - **The Role of APOE4 in Disrupting the Homeostatic Functions of Astrocytes and Microglia in Aging and Alzheimer's Disease**. *Frontiers in Aging Neuroscience* 11:14 (2019) 1-31.
- ⁴¹DOENS, D., FERNANDEZ, P. - **Microglia receptors and their implications in the response to amyloid β for Alzheimer's disease pathogenesis**. *Journal of Neuroinflammation*. 11:48 (2014) 1-14.
- ⁴²SEO, E.J., FISCHER, N., EFFERTH, T. - **Phytochemicals as inhibitors of NF- κ B for treatment of Alzheimer's disease**. *Pharmacological Research*, 129 (2018) 262-273.

- ⁴³FRENKEL, D., WILKINSON, K., ZHAO, L., HICKMAN, S.E., MEANS, T.K., PUCKETT, L., FARFARA, D., KINGERY, N.D., WEINER, H.L., KHOURY, J.E. - **Scara1 deficiency impairs clearance of soluble Amyloid- β by mononuclear phagocytes and accelerates Alzheimer's-like disease progression.** Nature Communications, 4:2030 (2013) 1-18.
- ⁴⁴HENEKA, M., CARSON, M., KHOURY, J., LANDRETH, G. et al. - **Neuroinflammation in Alzheimer's Disease.** Lancet Neurology, 14:4 (2015) 388-4405.
- ⁴⁵FROST, G.R., LI, Y.M. - **The role of astrocytes in amyloid production and Alzheimer's disease.** Open Biology, 7:12 (2017) 1-14.
- ⁴⁶BLASKO, I., STAMFER-KOUNTCHEV, M., ROBATSCHER, P., VEERHUIS, R., EIKELBOOM, P., GRUBECK-LOEBENSTEIN, B. - **How chronic inflammation can affect the brain and support the development of Alzheimer's disease in old age: the role of microglia and astrocytes.** Aging Cell, 3 (2014) 169-176.
- ⁴⁷ECKET, A., SCHMITT, K., GOTZ, J. - **Mitochondrial dysfunction - the beginning of the end in Alzheimer's disease? Separate and synergistic modes of tau and amyloid- β toxicity.** Alzheimer's Research & Therapy, 3:15 (2011) 1-11.
- ⁴⁸MAGALINGAM, K.B., RADHAKRISHNAN, A., PING, N.S., HALEAGRAHARA, N. - **Current Concepts of Neurodegenerative Mechanisms in Alzheimer's Disease.** BioMed Research International, 2018 (2018) 1-12.
- ⁴⁹NAOI, M., WU, Y., SHAMOTO-NAGAI, M., MARUYAMA, W. - **Mitochondria in Neuroprotection by Phytochemicals: Bioactive Polyphenols Modulate Mitochondrial Apoptosis System, Function and Structure.** International Journal of Molecular Sciences, 20:10 (2019) 2451-2482.
- ⁵⁰GUO, C., SUN, L., CHEN, X., ZHANG, D. - **Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases.** Neural Regeneration Research, 8:21 (2013) 2003-2014.
- ⁵¹GIORGI, C., AGNOLETTI, C., BONONI, A., BONORA, M., MARCHI, E., MARCHI, S., MISSIROLI, S., PATERGNANI, S., POLETTI, F., RIMESSI, A., SUSKI, J.M., WIECKOWSKI, M.R., PINTON, P. - **Mitochondrial calcium homeostasis as potential target for mitochondrial medicine.** Mitochondrion, 12:1 (2012) 77-85.
- ⁵²GRIMM, A., LIM, Y., NYAGAN, A.G.M., GOTZ, J., ECKERT, A. - **Alzheimer's Disease, Oestrogen and Mitochondria: an Ambiguous Relationship.** Molecular Neurobiology, 46:1 (2012) 151-160.

- ⁵³EPSTEIN, F.H, LIPTON, S.A., ROSENBERG, P.A. - **Excitatory Amino Acids as a Final Common Pathway for Neurologic Disorders.** New England Journal of Medicine, 330:9 (1994) 613-622.
- ⁵⁴UWECHUE, N.M, MARX, MC., CHEVY, Q., BILLUPS, B.- **Activation of glutamate transport evokes rapid glutamine release from perisynaptic astrocytes.** The journal of physiology. 590:10 (2012) 2317-2331.
- ⁵⁵NOVELLI, A., REILLY, J.A., LYSKO, P.G., HENNEBERRY, R.C. - **Glutamate becomes neurotoxic via the N-methyl-D-aspartate receptor when intracellular energy levels are reduced.** Brain Research, 451:1-2 (1988) 205-12.
- ⁵⁶BEAL, M.F.- **Does impairment of energy metabolism result in excitotoxic neuronal death in neurodegenerative illnesses?** Annals of Neurology, 31:2 (1992) 119-130.
- ⁵⁷WANG, R, REDDY, P.W. - **Role of glutamate and NMDA receptors in Alzheimer's disease.** Journal of Alzheimer's Disease, 57:4 (2017) 1041-1048.
- ⁵⁸TRACHOOTHAM, D., LU, W., OGASAWARA, M.A., RIVERA-DEL VALLE, N., HUANG, P. - **Redox Regulation of Cell Survival,** Antioxidants & Redox Signaling 10:8 (2008) 1343-1374.
- ⁵⁹WALLACE, D.C. **Mitochondrial Diseases in Man and Mouse.** Science, 283:5407 (1999) 1482-1488.
- ⁶⁰MEO, S.D., REED, T.T., VENDITTI, P., VICTOR, V.M. - **Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions.** Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016 (2016) 1-44.
- ⁶¹TURRENS, J.F. - **Mitochondrial formation of reactive oxygen species.** The Journal of Physiology, 552:2 (2003) 335-344.
- ⁶²SULTANA, R., PONN, H.F., CAI, J., PIERCE, W.M., MERCHANT, M., KLEIN, J.B., MARKESBERY, W.R., BUTTERFIEL, D.A. - **Identification of nitrated proteins in Alzheimer's disease brain using a redox proteomics approach.** Neurobiology of disease. 22:1 (2006) 76-87.
- ⁶³QUIJANO, C., HERNANDEZ-SAAVEDRA, D., CASTRO, L., MCCORD, J.M., FREEMAN, B.A., RADI, R. - **Reaction of Peroxynitrite with Mn-Superoxide Dismutase.** Journal of Biological Chemistry, 276:15 (2001) 11631-11638.

- ⁶⁴KAGAN, V.E., TYURIN, V.A., JIANG, J., TYURINA, Y.Y., RITOV, V.B., AMOSCATO, A.A., BORINSENKO, G.G. - **Cytochrome c acts as a cardiolipin oxygenase required for release of proapoptotic factors.** *Nature Chemical Biology*, 1:4 (2005) 223–232.
- ⁶⁵PHARES, T.W., FABIS, M.J., BRIMER, C.M., KEAN, R.B., HOOPER, D.C. - **A Peroxynitrite-Dependent Pathway Is Responsible for Blood-Brain Barrier Permeability Changes during a Central Nervous System Inflammatory Response: TNF- Is Neither Necessary nor Sufficient.** *The Journal of Immunology*, 178:11 (2007) 7334–7343.
- ⁶⁶FRANÇA, B.K., ALVES, M.R.M., SOUTO, F.M.S., TIZIANE, L., BOAVENTURA, R.F., GUIMARÃES, A., JR ALVES, A. - **Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos.** *GE Jornal Português de Gastrenterologia*, 20:5 (2013) 199-206.
- ⁶⁷SIEGEL, S.J., BIESCHKE, J. POWERS, E.T., KELLY, J.W. - **The Oxidative Stress Metabolite 4-Hydroxynonenal Promotes Alzheimer Protofibril Formation[†].** *Biochemistry*, 46:6 (2007) 1503-1510.
- ⁶⁸ARIMON, M., TAKEDA, S., POST, K., SVIRSKY, S., HYMAN, B.T., BEREZOVSKA, O. - **Oxidative stress and lipid peroxidation are upstream of amyloid pathology.** *Neurobiology of Disease*, 84 (2015) 109-119.
- ⁶⁹BUDIMIR, A. – **Metal ions, Alzheimer’s disease and chelation therapy.** *Acta Pharmaceutica*, 61 (2001) 1-14.
- ⁷⁰VENKAT, P., CHOPP, M., CHEN, J. - **New insights into coupling and uncoupling of cerebral blood flow and metabolism in the brain.** *Croatian Medical Journal*, 57:3 (2016) 223-228.
- ⁷¹NELSON, A.R., SWEENEY, M.D., SAGARE, A.P., ZLOKOVIC, B.V.- **Neurovascular Dysfunction and Neurodegeneration in Dementia and Alzheimer’s disease.** *Biochimica et Biophysica Acta*, 1862:5 (2016) 887-900.
- ⁷²LOURENÇO. C.F., LEDO, A., BARBOSA, R.M., LARANJINHA, J. - **Neurovascular Coupling Mediated by Neuronal Derived-Nitric Oxide: Mechanisms in Health and Dysfunction with Impact on Aging and Alzheimer’s Disease.** *Biochemistry of Oxidative Stress*, 19 (2016) 289-308.
- ⁷³BENARROCH, EE. - **Neurovascular unit dysfunction: A vascular component of Alzheimer disease?** *Neurology*, 68:20 (2007) 1730-1732.

- ⁷⁴ALZHEIMER'S ASSOCIATION - **2016 Alzheimer's disease facts and figures.** *Alzheimer's & Dementia*, 12 (2016) 459-509.
- ⁷⁵ASSOCIAÇÃO ALZHEIMER PORTUGAL - **Doença de Alzheimer - Tratamento.** [Acedido a 25 de junho de 2019]. Disponível na internet: <http://alzheimerportugal.org/pt/text-0-9-35-26-terapeutica-farmacologica>
- ⁷⁶VIEGAS, F.P.D., SIMÕES, M.C.R., ROCHA, M.D., CASTELLI, M.R., MOREIRA, M.S., VIEGAS JUNIOR, C. - **Doença de Alzheimer: Caracterização, Evolução e Implicações do Processo Neuroinflamatório.** *Revista Virtual de Química*, 3:4 (2011), 286-306.
- ⁷⁷PAGARE, S., BHATIA, M., TRIPATHI, N., BANSAL, Y.K. - **Secondary metabolites of plants and their role: Overview.** *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 9:3 (2015) 293-304.
- ⁷⁸PROENÇA DA CUNHA, A. – **Farmacognosia e Fitoquímica.** 1ª Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2005. ISBN 9789723111422.
- ⁷⁹SANTHAKUMAR, A.B., BATTINO, M., ALVAREZ-SUAREZ, J.M. - **Dietary polyphenols: Structures, bioavailability and protective effects against atherosclerosis.** *Food and Chemical Toxicology*, 113 (2018) 49-65.
- ⁸⁰BEHLING, E.B., SENDÃO, M.C., FRANCESCATO, H.D.C., ANTUNES, L.M.G., BIANCHI, M.L.P - **Flavonóide Quercetina: Aspetos Gerais e Ações Biológicas.** *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 15:3 (2004) 285-292.
- ⁸¹FREYSSIN, A., PAGE, G., FAUCONNEAU, B., BILAN, A. - **Natural polyphenols effects on protein aggregates in Alzheimer's and Parkinson's prion-like diseases.** *Neural Regeneration Research*, 13:6 (2018) 955-961.
- ⁸²CARDOSO, J.F., JACKIX, A., PIETRO, L. - **O papel dos polifenóis na Doença de Alzheimer: revisão sistemática.** *Journal of the Health Sciences Institute*, 34:4 (2016) 240-245.
- ⁸³ZAPLATIC, E., SHAH, S.Z.A., UDDIND, M.S., NIAZE, K. - **Molecular mechanisms underlying protective role of quercetin in attenuating Alzheimer's disease.** *Life Science*, 224 (2019) 109-119.
- ⁸⁴COSTA, L.G., GARRICK, J.M., ROQUÈ, P.J., PELLACANI, C.- **Mechanisms of Neuroprotection by Quercetin: Counteracting Oxidative Stress and More.** *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016 (2016) 1-10.

- ⁸⁵PALLE, S., NEERATI, P. - **Enhancement of oral bioavailability of rivastigmine with quercetin nanoparticles by inhibiting CYP3A4 and esterases.** Pharmacological Reports, 69:2 (2017) 365-370.
- ⁸⁶GALIMBERTI, D., SCARPINI, E. - **Old and new acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's Disease.** Expert Opinion on Investigational Drugs, 25 (2016) 1744-7658.
- ⁸⁷TANG, M.; TAGHIBIGLOU, C. - **The Mechanisms of Action of Curcumin in Alzheimer's Disease.** Journal of Alzheimer's Disease, 58:4 (2017) 1003-1016.
- ⁸⁸ARSHAD, L., HANQUE, M.A., ABBAS BUKHARI, S.N., JANTAN, I. - **An overview of structure-activity relationship studies of curcumin analogs as antioxidant and antiinflammatory agents.** Future Medicinal Chemistry, 9:6 (2017) 605-626.
- ⁸⁹SOOD, P.K., NAHAR, U., NEHRU, B. - **Curcumin Attenuates Aluminum-Induced Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Rat Brain.** Neurotoxicity Research, 20:4 (2011) 351-361.
- ⁹⁰HU, S., MAITI, P., MA, Q., ZUO, X., JONES, M.R., COLE, G.M., FRAUTSCHY, S.A. - **Clinical development of curcumin in neurodegenerative disease.** Expert Review of Neurotherapeutics, 15:6 (2015) 629-637.
- ⁹¹OLIVEIRA, A.L.B., MONTEIRO, V.V.S., NAVEGANTES-LIMA, K.C., REIS, J.F., GOMES, R.S., RODRIGUES, D.V.S., GASPAR, S.L.F., MONTEIRO, M.C. - **Resveratrol Role in Autoimmune Disease- A Mini-Review.** Nutrients, 9;12 (2017) 1306-1328.
- ⁹²SINGH, M., ARSENEAULT, M., SANDERSON, T., MURTHY, V., RAMASSAMY, C. - **Challenges for Research on Polyphenols from Foods in Alzheimer's Disease: Bioavailability, Metabolism, and Cellular and Molecular Mechanisms.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56:13 (2008) 4855-4873.
- ⁹³CAPIRALLA, H., VINGTDEUX, V., ZHAO, H., SANKOWSKI, R., AL-ABED, Y., DAVIES, P., MARAMBAUD, P. - **Resveratrol mitigates lipopolysaccharide- and A β -mediated microglial inflammation by inhibiting the TLR4/NF- κ B/STAT signaling cascade.** Journal of Neurochemistry. 120 (2012) 461-472.
- ⁹⁴TOTH, P., TARANTINI, S., TUCSEK, Z., ASHPOLE, N.M., SOSNOWSKA, D., GAUTAM, T., BALLABH, P., KOLLER, A., SONNTAG, W.E., CSISZAR, A., UNGVARI, Z. - **Resveratrol treatment rescues neurovascular coupling in aged mice: role of improved cerebrovascular endothelial function and downregulation of**

NADPH oxidase. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 306:3 (2014) 299- 308.

⁹⁵IDE, K., MATSUOKA, N., YAMADA, H., FURUSHIMA, D., KAWAKAMI, K. - **Effects of Tea Catechins on Alzheimer's Disease: Recent Updates and Perspectives.** Molecules, 23:9 (2018) 2357-2370.

⁹⁶WEINREB, O., MANDEL, S., AMIT, T., YODIM, M.B.H. - **Neurological mechanisms of green tea polyphenols in Alzheimer's and Parkinson's diseases.** The Journal of Nutritional Biochemistry, 15:9 (2004) 506-516.

⁹⁷FARZAEI, M.H., BAHRAMSOLTANI, R., ABBASABADI, Z., BRAIDY, N., NABAVI, S.M. - **Role of green tea catechins in prevention of age-related cognitive decline: Pharmacological targets and clinical perspective.** Journal of Cellular Physiology, 234 (2019) 2447-2459.

⁹⁸ADENIJI, A.O., ADAMS, P.W., MODY, V.V.- **Amyloid β Hypothesis in the Development of Therapeutic Agents for Alzheimer's Disease.** Drug Discovery Approaches for the Treatment of Neurodegenerative Disorders, (2017) 109-143.

⁹⁹FU, Y., ZHENG, S., LU, S.C., CHEN, A. - **Epigallocatechin-3-gallate Inhibits Growth of Activated Hepatic Stellate Cells by Enhancing the Capacity of Glutathione Synthesis.** Molecular Pharmacology, 73:5 (2008) 1465-1473.

¹⁰⁰ADIKESAVAN, G., VINAYAGAM, M.M., ABDULRAHMAN, L.A., CHINNASAMY, T. - **(-)- Epigallocatechin-gallate (EGCG) stabilize the mitochondrial enzymes and inhibits the apoptosis in cigarette smoke-induced myocardial dysfunction in rats.** Molecular Biology Reports, 40:12 (2013) 6533-6545.