

Inês Rosário Brito Silva

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Polifenóis como Alternativa Farmacológica nas Doenças Inflamatórias Intestinais” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Dra. Rita Simões, e da Professora Doutora Carla Maria dos Santos Nunes e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Inês Rosário Brito Silva

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Polifenóis como Alternativa Farmacológica nas Doenças Inflamatórias Intestinais” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Dra. Rita Simões, e da Professora Doutora Carla Maria dos Santos Nunes e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

AGRADECIMENTOS

Este capítulo do meu percurso académico não estaria concluído sem antes agradecer de forma muito especial aos profissionais que me acompanharam durante estes meses.

À Dra. Rita Simões, diretora técnica e orientadora de estágio, agradeço a oportunidade de realizar o meu estágio na FAV.

A toda a equipa, sem exceção, o meu mais sincero agradecimento. Obrigada pela generosidade, pela vontade de partilha de conhecimentos, pelo carinho e amizade que sempre demonstraram, pelas palavras de confiança e alento em todos os momentos e, sobretudo, obrigada por me fazerem sentir sempre parte da equipa.

Queria deixar um agradecimento muito especial à Professora Doutora Carla Nunes pela simpatia, excelente orientação e disponibilidade que demonstrou durante a realização da presente monografia.

Um agradecimento muito especial aos meus pais. Obrigada pelo esforço, carinho, disponibilidade e amor incondicional.

À minha irmã, a minha confidente, muito obrigada. Obrigada pelo carinho, paciência e ajuda.

Agradeço do fundo do coração ao Zé por toda a amizade, amor e apoio.

Agradeço igualmente aos meus amigos, por estarem sempre presentes, e por tornarem

A minha vida académica uma etapa inesquecível.

ÍNDICE

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

RESUMO.....	8
ABSTRACT	8
A FARMÁCIA AVENIDA.....	9
ANÁLISE SWOT	11
1. Pontos fortes.....	11
1.1. Localização da farmácia.....	11
1.2. Fichas de Cliente.....	12
1.3. Organização do armazém e distribuição de tarefas	13
1.4. Diversidade de produtos em <i>stock</i> e campanhas.....	14
1.5. Integração na equipa	15
2. Pontos fracos.....	15
2.1. Nome Comercial VS Princípio ativo.....	15
2.2. Receituário	16
2.3. Produtos de veterinária	16
2.4. Suplementos alimentares e fitoterapêuticos.....	17
3. Oportunidades.....	17
3.1. Manipulados.....	17
3.2. Formações.....	18
3.3. Receita sem papel	18
4. Ameaças	19
4.1. Preço de referência de custo nas receitas eletrónicas.....	19
4.2. Competitividade entre as farmácias.....	19
CASOS CLÍNICOS.....	20
1. Ataques de pânico e depressão	20
2. Irritação palpebral	21
3. Prevenção de infeção urinária.....	21
CONSIDERAÇÕES FINAIS	23
REFERÊNCIAS.....	24

Parte II – Monografia

RESUMO.....	28
ABSTRACT	29
1. INTRODUÇÃO	30
2. DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS	30
2.1. Colite Ulcerosa e a Doença de Crohn.....	31
2.2. Epidemiologia	32
2.3. Etiologia.....	32
2.3.1. Fatores genéticos.....	33
2.3.2. Microbiota intestinal.....	33
2.3.3. Hipótese higiênica.....	34
2.3.4. Regulação imune.....	34
2.4. Mecanismos Moleculares subjacentes às Doenças Inflamatórias Intestinais	35
2.4.1. Stresse oxidativo	35
2.4.2. Disfunção da Barreira Epitelial Intestinal.....	35
2.4.3. Via de sinalização celular do fator Nuclear κ B (NF- κ B).....	38
2.4.4. Via de sinalização celular das Janus Kinases/Signal Transducer and Activator of Transcription (JAK/STAT).....	39
3. TRATAMENTO FARMACOLÓGICO	40
4. POLIFENÓIS	41
4.1. Estrutura e classificação	42
4.2. Mecanismos Moleculares subjacentes à atividade biológica dos polifenóis com impacto na inflamação intestinal	43
4.2.1. Efeito antioxidante.....	43
4.2.1.1. Modulação da via de sinalização celular do Nuclear factor-erythroid 2-related factor (Nrf2)	43
4.2.2. Modulação da via do Fator Nuclear κ B (NF- κ B).....	46
4.2.3. Modulação da via das Janus Kinases/Signal Transducer and Activator of Transcription (JAK/STAT).....	47
4.2.4. Modulação das Tight junctions	48
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária



Farmácia Avenida

Orientadora:
Dra. Rita Simões

LISTA DE ABREVIATURAS

EC – Estágio Curricular

FAV – Farmácia Avenida

GDT – Gabinete do Diretor Técnico

SWOT – do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

RESUMO

O estágio curricular (EC) é uma etapa fulcral para a formação de um jovem farmacêutico. Neste, conhecimentos adquiridos ao longo do percurso académico são moldados, direcionados e aprofundados, para que as máximas éticas e científicas pelas quais a profissão se rege passem a ser parte integrante do dia-a-dia, e o benefício do utente seja sempre a prioridade.

O presente relatório apresenta-se estruturado com uma análise SWOT, ferramenta que tem como objetivo identificar os Pontos Fortes (S) e Pontos Fracos (W), as Oportunidades (O) e as Ameaças (T), e nele se apresentam descritos os aspetos que mais me marcaram durante o EC, realizado na Farmácia Avenida (FAV) segundo a orientação da Dr.^a Rita Simões.

Por último, neste relatório, apresento também alguns casos práticos que demonstram situações que experienciei, durante as quais tive a oportunidade de auxiliar os utentes e de crescer profissionalmente, através do atendimento e aconselhamento farmacêutico.

Palavras-chave: Estágio; Utente; SWOT; Farmácia Avenida; Farmacêutico.

ABSTRACT

The curricular internship is a crucial stage in the formation of a young pharmacist. During this stage, knowledge acquired during the academic course shaped, directed and deepened so that the scientific and ethical maxims, by which our job is ruled, become an integral part of our everyday and, the benefit of the user is always the priority.

The structure of this report follows the SWOT analysis, a tool that aims for the identification of Strengths (S), Weaknesses (W), Opportunities (O) e Threats (T) and in it are described the aspects that struck me the most during the internship, fulfilled in Farmácia Avenida under the orientation of Dr. Rita Simões.

Lastly, it is also written in this report some practical cases that evidence situations I experienced during which I had the opportunity to assist the users and to grow professionally, through the assistance and pharmaceutical advice.

Keywords: Internship; User; SWOT; Farmácia Avenida; Farmacêutico.

A FARMÁCIA AVENIDA

A Farmácia Avenida (FAV) está localizada na Rua Primeiro de Janeiro, no Porto. Aberta desde 2008, esta farmácia, que comporta inúmeros serviços, uma diversa gama de produtos e horários alargados, representa uma mais valia para a população.

A zona na qual esta se localiza é pautada por uma dualidade de classes, fator que leva a que à farmácia cheguem pessoas com diferentes dúvidas e necessidades. Esta dualidade deve-se ao recente desenvolvimento empresarial, que originou um crescimento da população de classe média/alta, em contraste com os bairros sociais envolventes. A FAV responde assim a um conjunto de utentes muito alargado. Utesntes idosos com poucos recursos e polimedicados; utentes mais jovens, alguns a construir família, com maiores necessidades na área da dermocosmética e pluricultura, e utentes com necessidades específicas, oriundos das instalações clínicas envolventes. Tudo isto impõe uma gestão de *stocks* direcionada pela farmácia.

A FAV apresenta um horário de funcionamento das 8h30-24h00 nos dias úteis, 9h00-24h00 aos Sábados e 10h00-24h00 aos Domingos e feriados, assegurando assim a possibilidade de os utentes usufruírem de um horário alargado para satisfazerem as suas necessidades.

Periodicamente, a FAV assegura um serviço permanente, durante 24h, de modo a providenciar assistência à população em situações de urgência. Este serviço decorre segundo o Decreto-Lei n.º 53/2007 (1), sendo assegurado por um farmacêutico ou um funcionário legalmente habilitado.

Em termos de infraestrutura, esta farmácia apresenta instalações recentes e funcionais, estando o seu interior devidamente organizado de acordo com a Deliberação nº 2473/2007, de 28 de novembro (2). O espaço interior inclui a área de atendimento, um gabinete de cuidados farmacêuticos e atendimento personalizado, a área de armazém e receção de encomendas, o gabinete de diretor técnico (GDT), instalações sanitárias e uma divisão comum para guardar os bens pessoais.

A maior área da farmácia destina-se à sala de atendimento, onde existe um balcão com quatro postos individuais devidamente equipados. Para lá do balcão estão expostos vários produtos, nomeadamente medicamentos não sujeitos a receita médica, suplementos alimentares, produtos homeopáticos, produtos de veterinária e ainda alguns produtos de destaque ou com elevada procura, os quais, na maioria das vezes, variam de acordo com a sazonalidade.

Envolvendo a área de atendimento estão expostos a maioria dos produtos de venda livre, nomeadamente produtos de cosmética, produtos de puericultura, podologia e higiene oral, que estão ordenados de acordo com as marcas e gamas nos respetivos lineares. Está também reservada uma área dedicada aos “Sorrisos do Mês”. Nesta destacam-se os produtos abrangidos pelas principais campanhas exercidas na farmácia, que variam mensalmente.

Existe um gabinete de atendimento personalizado no qual são realizados testes bioquímicos, como o teste da glicémia, colesterol e triglicérideos e, ainda, a medição da tensão arterial. Neste gabinete decorrem também serviços prestados por profissionais que se deslocam periodicamente à farmácia, como os serviços de enfermagem, sessões de nutrição e ações de aconselhamento de dermocosmética.

Numa zona inacessível ao utente, encontram-se o armazém, as instalações sanitárias e o GDT. O armazém é uma área onde se dá a receção das encomendas e onde estas são conferidas diariamente. Neste existem três módulos de arrumação onde todos os produtos estão organizados por ordem alfabética. No primeiro módulo estão organizados os medicamentos para uso retal, os medicamentos na forma de saquetas ou granulados, as ampolas, os xaropes, as suspensões e formas líquidas de grande volume e ainda os comprimidos e cápsulas. No segundo módulo organizam-se as pomadas e cremes para usos variados, produtos vaginais, injetáveis, produtos nasais, produtos otológicos, gotas orais, produtos oftálmicos e produtos de higiene oral. Por fim, no terceiro módulo estão as loções, shampoos, e algumas marcas cosméticas que não se apresentam expostas nos lineares. É neste local onde estão também arrumados os produtos de frio, num frigorífico a uma temperatura de 2-8°C. O armazém possui uma série de prateleiras dedicadas à arrumação de produtos vendidos ou reservados.

Esta área é um local de suma importância para o bom funcionamento da farmácia, uma vez que uma boa organização do armazém permite um atendimento mais rápido e eficaz.

O GDT é um local onde são resolvidos os problemas de ordem burocrática e onde se encontra guardado e organizado, em termos de organismos, todo o receituário do mês em questão.

A FAV é constituída por uma equipa jovem e dinâmica, da qual fazem parte elementos fixos e colaboradores. Todos os elementos da equipa têm tarefas e responsabilidades definidas, sendo que existe também uma flexibilidade na execução das tarefas, dependendo das

necessidades. Tudo isto permite um bom funcionamento e uma prestação de serviços de qualidade para os utentes.

ANÁLISE SWOT

Uma das ferramentas utilizada na realização deste relatório será a análise SWOT, acrónimo para as palavras inglesas *Strengths* (Pontos Fortes), *Weaknesses* (Pontos Fracos), *Opportunities* (Oportunidades) e *Threats* (Ameaças). Esta análise permite avaliar as questões internas (Pontos Fortes e Pontos Fracos) e questões externas (Oportunidades e Ameaças), com o objetivo de obter uma apreciação global que possibilite definir estratégias e prioridades de modo a melhorar o desempenho e o funcionamento de um projeto pessoal ou empresarial (3).

Posto isto, aplicada a este relatório, esta análise irá permitir a apresentação e avaliação dos pontos fortes e pontos fracos, e das oportunidades e ameaças com que me deparei ao longo do meu EC na FAV.

I. Pontos Fortes

I.1. Localização da farmácia

Visto localizar-se numa grande avenida da cidade do Porto e, nas suas proximidades, existirem clínicas de saúde de diversas áreas, como medicina estética, dentária e de fertilidade, a FAV dá resposta a um conjunto de utentes alargado, com uma ampla gama de necessidades.

De entre os utentes assistidos estão utentes mais idosos, que se dirigem à farmácia regularmente, não só para aviar a medicação habitual, uma vez que na sua maioria são polimedicados, mas também para um acompanhamento de diversos parâmetros, como os níveis de colesterol, glicémia, triglicérideos, tensão arterial; utentes que, após uma consulta especializada, se dirigem à farmácia em busca de produtos e aconselhamentos singulares; utentes que procuram um aconselhamento específico na área da dermocosmética e puericultura, uma vez que a FAV apresenta uma grande diversidade de marcas desta natureza; e utentes que se deslocam à farmácia para satisfazer uma necessidade pontual.

Tudo o que foi anteriormente exposto veicula a necessidade de um atendimento diferencial.

Apesar de, numa fase inicial do meu EC, este aspeto se ter apresentado como uma dificuldade, esta heterogeneidade de casos proporcionou-me uma maior experiência e permitiu-me vislumbrar a plasticidade que um farmacêutico comunitário é, hoje em dia, obrigado a ter de modo a assegurar a máxima satisfação de todo o tipo de utentes.

1.2. Fichas de Cliente

Apesar da FAV se encontrar localizada numa cidade, onde existe uma maior concorrência a curta distância, esta farmácia é frequentada por um grande número de utentes regulares e fidelizados. Este aspeto deve-se ao exemplar exercício da profissão por parte da equipa e à existência de fichas do cliente que, na minha opinião, contribuem para este.

No meu ponto de vista, as fichas de cliente são fulcrais para o desempenho de um profissional ao balcão, uma vez que, permitindo o acesso aos dados do utente, auxiliam o farmacêutico nos aspetos mais simples do atendimento.

São exemplo disso a dispensa de um determinado medicamento quando prescrito por princípio ativo. Nestes casos, é frequente os utentes, em especial os mais idosos, desconhecerem, quando existe alternativa, se fazem medicação de marca ou genérico e, no último caso, o laboratório em questão. Visto para certos utentes a cartonagem se encontrar veiculada à finalidade do tratamento, e a dispensa de uma caixa de outro laboratório resultar em insatisfação, a consulta do historial de vendas, através da ficha de cliente, torna-se uma vantagem.

Outro dos exemplos que demonstra um ponto forte das fichas de cliente é a possibilidade de verificar, também a partir do historial de vendas, que medicamentos/produtos foram já dispensados para cada utente e saber que, caso determinado medicamento/produto não tenha sido eficaz, este não deve ser dispensado novamente ao utente em questão, ficando o farmacêutico de imediato informado que deve aconselhar alternativas.

Por fim, outra mais valia das fichas de cliente é o facto de nesta se encontrarem registados múltiplos dados do utente, como a morada, que facilita o processo de entregas ao domicílio, o número de contribuinte, que agiliza o processo de venda ao balcão, e os descontos que cada utente usufrui na farmácia.

1.3. Organização do armazém e distribuição de tarefas

Apesar da FAV ser uma farmácia extremamente movimentada, esta apresenta uma área reduzida. Das divisões com menor área faz parte o armazém.

Visto, na minha opinião, o armazém ser de suma importância para o bom funcionamento da farmácia é, tendo em conta a sua reduzida dimensão, exigida uma grande capacidade de organização e empenho aos profissionais que lá trabalham. Só assim é possível que todos os processos sejam executados da forma mais eficaz e ágil possível.

Isto pode ser verificado na receção e conferição das encomendas, visto que os produtos, uma vez rececionados, são separados por quatro depósitos. Nos dois primeiros depósitos são colocados os produtos pertencentes ao primeiro módulo (no primeiro ficam os produtos iniciados pelas letras A a G, e no segundo de G a Z); no terceiro depósito são colocados os produtos referentes ao segundo e ao terceiro módulo; e no quarto depósito colocam-se os produtos que não ficam arrumados no armazém, ficando expostos na sala de atendimento ou nas gavetas por baixo dos balcões. Esta divisão agiliza o processo de arrumação e minimiza os erros que possam decorrer da mesma.

Outra das consequências do reduzido espaço no armazém é o facto de nem todo o stock poder ficar armazenado nas gavetas pertencentes aos diferentes módulos, ficando assim estes produtos arrumados em depósitos, também organizados por ordem alfabética, designados por “excedentes”.

Na FAV os elementos da equipa têm diferentes tarefas atribuídas, apesar de estas poderem ser flexíveis dependendo das necessidades.

Os depósitos de “excedentes” são, duas vezes por semana, verificados por um dos elementos da equipa, com o objetivo de repor os *stocks* máximos e mínimos das gavetas dos diferentes módulos. Este processo permite que, mesmo com uma reduzida área, a FAV tenha sempre os *stocks* otimizados de acordo com as necessidades dos utentes. Para além dos depósitos dos produtos que ficam no armazém, também os depósitos de “excedentes” de cosmética e de higiene oral são verificados semanalmente por um elemento da equipa, de modo a preencher os espaços vazios existentes no linear.

Outra das tarefas da responsabilidade de determinado elemento da equipa é a otimização dos *stocks*, que são constantemente redefinidos de acordo com o aumento ou diminuição da procura de determinados produtos. Isto permite que a FAV mantenha sempre a capacidade de resposta às necessidades do utente.

Alguns elementos da equipa são responsáveis pelo *marketing*, e têm o papel de organizar os lineares e destacar determinados produtos de acordo com a sazonalidade ou determinadas campanhas.

Uma vez que a FAV dispõe de um serviço de entregas ao domicílio, diariamente, um elemento da equipa fica destacado para a receção (por via telefónica, informática ou fax), preparação e expedição dos pedidos de encomenda, que depois são entregues pela equipa de estafetas.

Também, diariamente, um elemento da equipa fica destacado para o tratamento dos “pendentes”, que são produtos que se encontram rateados, esgotados ou por alguma razão indisponíveis no momento da sua solicitação.

Para além destas funções, há um conjunto de elementos responsáveis pela gestão do economato e um elemento responsável pela organização e correção do receituário.

Considero assim este ponto como forte pois toda esta organização, que não está à vista do público e que eu própria pouco conhecia antes de iniciar o meu EC, é um dos pilares para a sustentação da organização numa farmácia e, o facto de eu ter estado inserida nesta equipa e nela desempenhar um papel ativo, foi um grande acréscimo à minha experiência profissional.

I.4. Diversidade de produtos em stock e campanhas

A FAV, apesar de não ser uma farmácia de grandes dimensões, apresenta e aposta num elevado número de marcas de dermocosmética e de puericultura, de modo a satisfazer as diversas necessidades dos utentes.

Para mim, isto representa uma mais valia, na medida em que diversos utentes de diversas classes sociais, quando chegam à FAV em busca de um produto para satisfazer determinada necessidade, devido à enorme oferta, conseguem adquirir tal produto dentro do seu orçamento.

A área da dermocosmética tem sofrido um crescimento exponencial nos últimos anos e, na minha opinião, outra das mais valias da FAV é a existência da “Marca do Mês”. Nesta campanha, mensalmente, uma marca é escolhida, apresentando descontos que a tornam mais vantajosa para o consumidor. Com isto, o utente tem a oportunidade de experimentar uma nova marca, ou novos produtos dentro da mesma, culminando muitas vezes na fidelização a esta.

Enquanto estagiária, reconheci que esta diversidade foi importante, pois permitiu-me contactar com uma enorme variedade de marcas que, enquanto estudante, não me foi dada a conhecer e elucidou-me acerca da importância do conhecimento das mesmas para o sucesso no aconselhamento farmacêutico.

1.5. Integração na equipa

Um dos grandes pontos fortes durante o meu EC foi pertencer à equipa da FAV, uma equipa constituída por pessoas jovens e dinâmicas, que de tudo fizeram para que a minha integração fosse a melhor possível.

Não posso negar que os primeiros dias na farmácia foram marcados por um enorme nervosismo e insegurança, visto ser a primeira vez que os conhecimentos teóricos adquiridos durante os 5 anos de curso foram postos em prática.

Aqui, toda a equipa teve um papel fundamental, pois mostraram-me que era nesta etapa que os conhecimentos adquiridos iriam ser aprofundados e consolidados, e deixaram-me à vontade para colocar qualquer tipo de dúvidas, fazendo-me perceber que o seu principal objetivo era esclarecer totalmente as minhas questões, auxiliando-me na correta aplicação dos conhecimentos teóricos, seguindo sempre os princípios éticos e deontológicos da profissão.

2. Pontos fracos

2.1. Nome Comercial VS Princípio ativo

Uma vez que, ao longo dos 5 anos do curso, nas mais diversas unidades curriculares, os fármacos foram lecionados por princípio ativo, a capacidade de um estagiário associar estes nomes ao nome comercial de um medicamento é reduzida e, na minha opinião, isto traduz-se num entrave no atendimento ao balcão.

Apesar de, na FAV, a parte inicial do meu EC ter sido passada a manusear as bulas das caixas de medicamentos e a recorrer à informação científica do programa informático Sifarma 2000® e do Prontuário Terapêutico, na tentativa de ampliar o meu conhecimento, creio que, mesmo assim, esta lacuna se manteve como uma das maiores causas de insegurança durante o atendimento.

Muitas vezes, ao analisar as receitas apresentadas pelos utentes, não conseguia associar o medicamento prescrito ao seu princípio ativo e à sua ação farmacológica. Considero isto uma fragilidade, visto dificultar a tarefa de dispensa e aconselhamento farmacêutico no atendimento ao público, acabando assim, por demonstrar falta de confiança.

Agradeço aqui, a ajuda de toda a equipa da FAV por todo o auxílio prestado durante os atendimentos e pela motivação e apoio constante durante o meu EC.

2.2. Receituário

Hoje em dia, já a grande maioria do receituário que chega às farmácias se encontra no formato eletrónico, sendo esta, na minha opinião, a forma mais fácil, eficaz e inerrante de dispensa.

Uma vez que a frequência da prescrição manual é cada vez menor, durante o meu EC senti alguma insegurança aquando da dispensa de medicamentos desta forma prescritos. Esta insegurança advinha da maior burocracia associada a este tipo de receitas, da dificuldade em entender a caligrafia do prescritor e da falta de experiência com os diversos planos de comparticipação especial. Tudo o anteriormente exposto me suscitou dúvidas, visto que, devido à pouca frequência destes casos, muitos deles eram para mim desconhecidos e não sabia como os realizar no Sifarma 2000®.

Estas dúvidas conduziram, por vezes, a erros, e à necessidade de auxílio por parte dos elementos da equipa.

2.3. Produtos de veterinária

Devo confessar que, inicialmente, o aconselhamento de produtos de veterinária formou um grande entrave na minha performance ao balcão e fragilizou alguns dos meus atendimentos, pois o meu conhecimento sobre este assunto era insuficiente para o devido aconselhamento farmacêutico e posterior cedência.

No decorrer do EC, com o aparecimento de um maior número de casos dentro desta área, fui adquirindo mais conhecimentos, o que me permitiu ter uma postura mais tranquila e fornecer um aconselhamento mais eficaz.

Pelo anteriormente exposto, sinto que este foi um dos aspetos negativos do EC, visto, na minha opinião, o ensino sobre produtos de veterinária ser praticamente nulo durante o

percurso académico e ser apenas, já em contexto de atendimento no balcão, que se dá o primeiro contacto com esta área.

2.4. Suplementos alimentares e fitoterapêuticos

A tendência atual para uma alimentação saudável faz com que cada vez mais os utentes procurem suplementos alimentares naturais, uma vez que a ideia enraizada de que “o que é natural é bom” continua em voga.

Diversos são os produtos existentes na farmácia, com composição semelhante entre si, que se posicionam para a mesma necessidade, e isso, na minha opinião, tornou-se um ponto fraco, devido à minha inexperiência, na medida em que existem inúmeros produtos a considerar durante o atendimento.

Outra das preocupações que me assolavam aquando da dispensa destes produtos, nomeadamente suplementos para o emagrecimento, eram as possíveis interações com a medicação crónica dos utentes. Nestes casos, tentei fazer um levantamento da medicação e procurei possíveis interações, recorrendo à ajuda da equipa sempre que tinha dúvidas acerca do produto.

Posto isto, ao dispensar suplementos tive o cuidado de explicar ao utente que tais suplementos têm de ser sempre enquadrados num estilo de vida e alimentação saudável, e nunca como substitutos da última.

3. Oportunidades

3.1. Manipulados

Durante o meu EC na FAV tive a possibilidade de fazer medicamentos manipulados, o que para mim foi extremamente interessante, visto a área da manipulação galénica sempre me ter cativado.

No tempo em que permaneci no laboratório procedi à preparação de diversos manipulados, como por exemplo: Suspensão Oral de Trimetoprim a 1%, Solução Hidroalcoólica de Minoxidil a 5%, Cápsulas de Hidrocortisona a 20 mg, Solução de Ácido Acético a 2%, entre outras. Preenchi também as respetivas fichas de preparação, que discriminam o teor de substância ativa, a forma farmacêutica, o lote, a quantidade a preparar, a data de preparação, a origem e a quantidade das matérias primas, o método de preparação, o embalamento, o

prazo de utilização, as condições de conservação, os ensaios de verificação e o cálculo do preço de venda do produto manipulado.

Visto, hoje em dia, nem todas as farmácias possuírem este serviço, considero a preparação de manipulados uma oportunidade, pois esta experiência elucidou-me acerca das preparações mais solicitadas, tanto pelos profissionais de saúde como pelos utentes, e estimulou as minhas competências e técnicas laboratoriais.

3.2. Formações

A FAV, assim como as farmácias do grupo à qual pertence, prima pela formação que dá aos seus colaboradores.

Ao longo do meu EC, fui incentivada a participar em diversas formações, organizadas e realizadas por empresas/indústrias farmacêuticas. Nestas, diversos produtos da marca em questão são apresentados, bem como as vantagens que a sua utilização traz para o consumidor.

Na minha opinião, estas formações são uma mais valia visto permitirem conhecer melhor os produtos e fornecerem informações preciosas para o aconselhamento farmacêutico. As formações na área da dermocosmética a que tive a oportunidade de assistir foram fulcrais para o meu desempenho ao balcão, visto que, no decorrer de cada formação, para além do conhecimento teórico, é-nos dada a oportunidade de experimentar os produtos, o que dá a noção real da textura, fragância e cor, o que é fundamental no aconselhamento, visto grande parte dos utentes ter sempre essas preocupações em mente no ato de compra.

Entre as formações a que participei encontram-se a da Filorga[®], SVR[®], ISDIN[®], ELANCYL[®], Avène[®], Bioderma[®] e URIAGE[®].

3.3. Receita sem papel

Como acima referi, nos pontos fracos, as receitas sem papel são na minha opinião a forma mais eficaz de dispensa de medicamentos, representando assim uma oportunidade.

Estas apresentam inúmeras vantagens, quer para o profissional que dispensa a medicação, quer para o utente, e adquiriram carácter obrigatório para todas as unidades do Serviço Nacional de Saúde, em abril do ano corrente (4).

Estas receitas permitem minimizar erros na dispensa visto, aquando da finalização do atendimento, haver um confronto entre o medicamento dispensado e a linha de prescrição médica inserida.

Outra das grandes vantagens deste tipo de receita é o facto de a medicação poder ser dispensada de uma só vez ou separadamente, sendo possível levantar os restantes medicamento em diferentes estabelecimentos e em datas distintas, de acordo com a preferência do utente.

4. Ameaças

4.1. Preço de referência de custo nas receitas eletrónicas

Numa receita eletrónica há referência ao valor do custo máximo que o medicamento pode apresentar, em cada linha de prescrição.

Esta menção pode, na minha opinião, tornar-se numa ameaça por diversos motivos e leva, por vezes, a uma certa desconfiança por parte do utente, sempre que este se depara com uma discrepância de preços entre a receita e a fatura de compra.

A diferença de preços pode advir do facto de muitos dos valores referidos nas receitas não estarem atualizados com os medicamentos disponíveis pelo fornecedor, não podendo, por isso, ser adquiridos pela farmácia. Outro motivo deve-se ao facto de as farmácias não serem obrigadas a comercializar o genérico mais barato, mas sim um dos 5 mais baratos, fazendo com que o preço apresentado na receita possa não corresponder ao genérico de preço inferior comercializado por esta. É de salientar que, quando a farmácia não comercializa o genérico mais barato, e este se encontra disponível, a farmácia tem de adquirir o genérico desta marca com a maior brevidade possível, caso o utente o solicite (5).

Por tudo o exposto, o preço veiculado na receita pode, como disse, induzir o utente em erro, deixando o farmacêutico numa posição fragilidade, pois muitas vezes estes detalhes burocráticos não são facilmente entendidos pelo primeiro.

4.2. Competitividade entre as farmácias

Na minha opinião, umas das ameaças que a farmácia comunitária enfrenta, principalmente nas grandes cidades, devido à maior concorrência quer de outras farmácias quer de parafarmácias, é a crescente atenção, por parte dos utentes, aos descontos e promoções

nos preços de venda dos produtos e medicamentos não sujeitos a receita médica, e a sua comparação entre farmácias.

Se, por um lado, esta atenção por parte do utente traz benefícios, como as farmácias praticarem preços mais competitivos e em conta para este, por outro, receio que este passe a prestar menos atenção e dê menos valor à prestação do farmacêutico durante o ato de atendimento e de aconselhamento.

CASOS CLÍNICOS

I. Ataques de pânico e depressão

Um dos serviços prestados pela FAV, como acima referi, é a medição dos parâmetros bioquímicos e tensão arterial. Foi no desempenho destes serviços que tive o meu primeiro contacto com os utentes e, neste, tive a possibilidade de acompanhar diversos casos e prestar o meu aconselhamento.

Um dos casos que mais me marcou, pela sua evolução, foi uma utente que, após um episódio de mal-estar, se dirigiu à farmácia para medir a tensão arterial. Nesta medição verifiquei que os valores estavam um pouco elevados e, em conversa com a utente, esta confidenciou-me que estava a passar por períodos de imenso *stress*, associado a problemas no trabalho; referiu também que, anos antes, teve uma depressão grave, recorrendo atualmente ao Victan[®] em SOS. Aconselhei a utente a passar com mais regularidade na farmácia, de modo a avaliar as tensões, e a, caso os valores da tensão não regressassem à normalidade, reportar tal informação ao médico de família. A utente passou a fazer medição das tensões regularmente na FAV e explicou-me, durante uma destas medições, sofrer de ataques de pânico e recorrer a mais de 3 comprimidos de Victan[®] diariamente; referiu-me, também, sentir-se cada vez mais cansada e desmotivada, estando com sintomas depressivos. Aconselhei a utente a inserir medidas não farmacológicas no seu dia-a-dia, na tentativa de minimizar os sintomas, como fazer caminhadas diariamente, tentar passar tempo de qualidade com a família e amigos, bem como inserir na sua rotina atividades de lazer. Aconselhei também um suplemento à base de ómeegas, rico em DHA e EPA e, juntamente a estas medidas, a procurar ajuda médica.

De momento, por aconselhamento médico, a utente segue uma terapêutica com fluoxetina e suplementos alimentares à base de magnésio; desde o início desta nova terapêutica recorre

com menos frequência ao Victan[®], os ataques de pânico diminuíram e os valores de tensão arterial apresentam melhorias.

2. Irritação palpebral

Uma jovem chegou à farmácia com a zona das pálpebras bastante irritada, seca e descamativa. Quando interrogada acerca dos sintomas, referiu sentir um ardor e um desconforto permanente, que agravavam nas alturas em que utilizava maquilhagem e que amenizavam ao aplicar uma pomada com cortisona. Referiu ainda que sempre que suspendia o tratamento com cortisona, os sintomas reapareciam.

Expliquei à utente que a pomada de cortisona, apesar de apaziguar os sintomas, não tratava a causa da irritação e que o seu uso continuado era prejudicial, fragilizando a pele sensível, como é o caso da das pálpebras.

Uma vez que a irritação era mais acentuada na raiz das pestanas e no bordo palpebral, suspeitei que se pudesse tratar de uma alergia à maquilhagem. Aconselhei então a suspensão do seu uso, pois poderia ser a causa da irritação, e ainda à lavagem dos olhos com soro fisiológico e compressas esterilizadas, e a utilização do creme Topialyse Palpebral da SVR[®].

Fiz questão de alertar a utente para a importância de se manter a par do prazo de utilização dos produtos, após a abertura, em especial dos que são utilizados na zona ocular; referi também que, assim que a alergia e os sintomas desaparecessem e quisesse voltar a utilizar maquilhagem, deveria dar preferência a marcas com produtos mais suaves e com fórmulas para pele mais sensível, como é o caso da La Roche-Posay[®] e Avène[®].

3. Prevenção de infeção urinária

Em conversa com uma utente, durante o atendimento, esta referiu-me que tinha, frequentemente, infeções urinárias, e que lhe tinham falado em suplementos que ajudam a reduzir/impedir o aparecimento deste tipo de infeções, dos quais se apresentava descrente. Referi que este tipo de suplementação existia e que, efetivamente, apresentava benefícios neste tipo de patologia, uma vez que o arando, componente principal da maioria deste tipo de suplementação, evita a adesão das bactérias responsáveis pela infeção às paredes da bexiga, situação que se torna desfavorável para o crescimento e proliferação das mesmas.

Aconselhei o Monurelle Cranberry[®], visto ao arando estar associada a vitamina C, que apresenta efeito antioxidante e reduz o pH da urina, também isto um efeito adverso ao crescimento bacteriano (6).

Referi que, para além destes suplementos, a ingestão de grandes quantidades de água e a ida frequente à casa de banho tinham um impacto positivo e sugeri também um produto de higiene íntima

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O EC em farmácia comunitária foi o culminar de uma longa aprendizagem e um dos mais importantes desafios da minha vida académica.

O seu início esteve pejado pelo medo, visto ter-me deparado com uma realidade que, de certa forma, não espelhava aquilo que idealizei durante o percurso universitário; esta disparidade advém, na minha opinião, da realidade da farmácia se distanciar da preparação académica recebida.

Ao longo do EC, muito devido à excelente orientação por parte da equipa da FAV, as dúvidas foram diminuindo, sendo gradualmente substituídas pela capacidade de colocar em prática os conhecimentos teóricos aprendidos.

O EC alicerçou, ainda mais em mim, a ideia de que a profissão do farmacêutico é uma profissão com enorme responsabilidade, tendo este um papel preponderante na comunidade em que se insere.

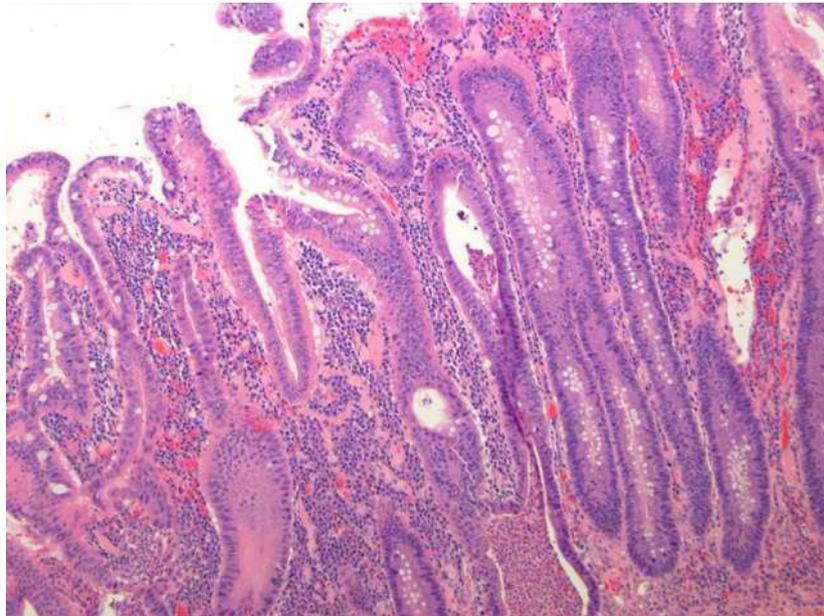
O farmacêutico tem, por isso, a obrigação e a responsabilidade de aconselhar segundo os mais altos valores éticos e científicos, tendo sempre como máxima, a satisfação dos utentes e a saúde pública da comunidade a que pertence.

REFERÊNCIAS

- (1) - Decreto-Lei n.º 53/2007. [acedido a 5 de agosto de 2017]. Disponível em: http://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/029-B_DL_53_2007_2ALT.pdf
- (2) - Deliberação n.º 2473/2007. [acedido a 5 de agosto de 2017]. Disponível em: http://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/023-D_Delib_2473_2007_REV.pdf
- (3) - Como fazer uma análise SWOT da sua empresa. [acedido a 5 de agosto de 2017]. Disponível em: <http://www.pmelink.pt/manuais/planeamento-e-estrategia/como-fazer-uma-analise-swot-da-sua-empresa>
- (4) - Serviço Nacional de Saúde – Receita Sem Papel. [acedido a 6 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <http://spms.min-saude.pt/product/receita-sem-papel/>
- (5) - Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde. [acedido a 7 de agosto de 2017]. Disponível em: http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas_Dispenza_20151029.pdf/4c1aea02-a266-4176-b3ee-a2983bdf790
- (6) - Monurelle Cranberry <https://misericordia.vp.farmaciasportuguesas.pt/catalogo/index.php/catalog/product/view/id/459750/s/monurelle-cranberry/category/1150/>

Parte II

Polifenóis como alternativa farmacológica nas doenças inflamatórias intestinais



Tutora:

Professora Doutora Carla Nunes

LISTA DE ABREVIATURAS

ARE – Elemento de Resposta Antioxidante, do inglês, *Antioxidant Response Elements*

CBP – do inglês, *CREB-binding Protein*

CU – Colite Ulcerosa

Cul3 – Culina 3

DC – Doença de Crohn

DII – Doença Inflamatória Intestinal

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

EGCG – Epigallocatequina-3-galate

EpRE – Elemento de Resposta Eletrofílica, do inglês, *Electrophile-responsive Element*

ERK – do inglês, *Extracellular Signal-regulated Kinase*

GPx – Glutatio Peroxidase

GSH – Glutatio

GST – Glutatio S-Transferase

HDAC – do inglês, *Histone Deacetylase*

HO-1 – Heme Oxigenase-1

HSP90 – do inglês, *Heat Shock Protein 90*

IBD – do inglês, *Intestinal Bowel Disease*

ICAM-1 – Molécula de Adesão Intercelular-1, do inglês, *Intercellular Adhesion Molecule-1*

IFN – Interferão

I κ B – inibidor do *Kappa B*

IKK – Cinase do *I κ B*

IL-1 β – Interleucina 1 β

IL-8 – Interleucina -8

JAK – do inglês, *Janus Kinase*

KCLM – Cinases de cadeias leves de miosina

Keap1 – do inglês, *Kelch-like ECH-associated Protein 1*

LC8 – do inglês, *8-kDa dynein light chain protein*

LPS – Lipopolissacarídeo

MAJ – Molécula de Adesão Juncional

MAPK – Proteínas cinases ativadas por mitogénios, do inglês, *Mitogen-activated Protein Kinases*

MCP-1 – do inglês, *Monocyte Chemoattractant Protein-1*

MIP-2 – do inglês, *Macrophage Inflammatory Protein 2*

NF- κ B – Fator Nuclear *Kappa B*, do inglês, *Nuclear Factor Kappa B*

NQO1 – NAD(P)H:quinone Oxidoreductase-1

Nrf2 – do inglês, *Factor-erythroid-2-related Factor 2*

PIAS – Inibidor Proteico de STAT Ativadas

PKC – Proteína cinase C

PTP – Proteínas Fosfatases de Tirosina

RNS – Espécies Reativas de Nitrogénio, do inglês *Reactive Nitrogen Species*

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

SOCS – Supressor de Sinalização de Citocinas

SOD – Superóxido Dismutase

STAT – do inglês, *Signal Transducer and Activator of Transcription*

RET – Resistência Elétrica transepitelial

TNF – Fator de Necrose Tumoral, do inglês, *tumour necrosis factor*

TLR4 – do inglês, *Toll-like receptor 4*

ZO – do inglês, *Zonula Occluden*

RESUMO

As doenças inflamatórias intestinais (DII), nas quais estão incluídas a doença de Crohn (DC) e a colite ulcerosa (CU), são doenças inflamatórias crônicas e recidivantes que afetam o trato gastrointestinal e cuja etiologia não se encontra, ainda, completamente esclarecida.

A falta de conhecimento da etiologia traduz-se no uso de tratamentos pouco específicos, tais como antibióticos, esteroides e agentes imunossupressores, que apresentam uma baixa eficácia, aliada a um elevado número de efeitos adversos.

É, pois, imperioso o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas contra a inflamação intestinal que combinem eficácia e segurança.

Recentemente, fortes evidências sugerem que os polifenóis da dieta podem ser úteis na prevenção / tratamento de diversas doenças, nomeadamente de doenças inflamatórias crônicas como as DII. Apesar do seu mecanismo de ação ainda não se encontrar totalmente descodificado, acredita-se, atualmente, que os seus efeitos benéficos advenham, principalmente, da sua capacidade de modular cascatas de sinalização cruciais ligadas a condições fisiopatológicas, tais como processos inflamatórios.

Com esta monografia pretendo apresentar de forma sistematizada os mecanismos moleculares que suportam a atividade anti-inflamatória dos polifenóis da dieta e mostrar a sua relevância como potenciais alternativas terapêuticas nas DII.

Palavras-chave: doenças inflamatórias intestinais, terapêutica, polifenóis, cascatas de sinalização, mecanismos moleculares.

ABSTRACT

Inflammatory bowel disease, in which are included Crohn Disease(DC) and Ulcerative Colitis(CU), are chronic and relapsing inflammatory diseases that affect the gastrointestinal tract and whose etiology is not fully understood yet.

The lack of knowledge about the etiology results in the use of non-specific treatments, such as antibiotics, steroids and immunosuppressive agents, which have a low efficacy, together with a high number of adverse effects.

It is therefore imperative to develop new therapeutic strategies against the intestinal inflammation that combine efficiency and security.

Recently, strong evidence suggests that dietary polyphenols can be useful in the prevention/treatment of numerous diseases, in particular chronic inflammatory diseases such as Inflammatory Bowel Disease (IBD). Although its mechanism of action has not yet been fully decoded, it is currently believed that its beneficial effects come, mainly, from its ability to modulate crucial signaling cascades linked to physiopathological conditions, such as inflammatory processes.

With this monography I intend to present, in a systematic way, the molecular mechanisms that support the anti-inflammatory activity of dietary polyphenols and show their relevance as potential therapeutic alternatives in the IBD.

Keywords: inflammatory bowel disease, therapeutic, polyphenols, signaling pathways, molecular mechanisms.

I. INTRODUÇÃO

As DII são patologias inflamatórias crônicas e recidivantes do trato gastrointestinal, cuja etiologia se encontra ainda por esclarecer. Estas doenças afetam um elevado número de indivíduos em todo o mundo e reduzem significativamente a qualidade de vida dos mesmos. Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento da incidência e prevalência destas doenças, principalmente nos países industrializados, sendo, atualmente, consideradas um grave problema de saúde pública (J Burisch & Munkholm, 2013).

Estas patologias caracterizam-se por uma inflamação crônica da mucosa intestinal dos seus portadores. Os sintomas podem incluir diarreia, dor abdominal, febre, sinais clínicos de obstrução, e a sua intensidade pode variar de acordo com a localização da lesão (Baumgart & Sandborn, 2007).

Atualmente não existem tratamentos específicos para estas patologias e as atuais opções farmacológicas apresentam graves efeitos adversos que limitam o seu uso crônico (Bernstein, 2015).

Contudo, recentemente, vários estudos têm revelado que os polifenóis, compostos fenólicos naturais existentes em frutas e legumes, têm a capacidade de diminuir a inflamação crônica e desregulada que ocorre nestas patologias, sugerindo estes compostos como possíveis alternativas no tratamento das DII (Veza *et al.*, 2016; Hu, 2011). Apesar dos efeitos benéficos dos polifenóis terem sido, durante anos, atribuídos à sua atividade antioxidante observada *in vitro*, evidências crescentes sugerem que as suas atividades, *in vivo*, vão muito além das suas propriedades antioxidantes, e se devem essencialmente à capacidade de modular vias de sinalização celulares (Hu, 2011).

A presente monografia pretende debater os principais mecanismos moleculares subjacentes às DII e apresentar argumentos científicos que sugerem os polifenóis da dieta como uma possível estratégia inovadora para a intervenção preventiva e terapêutica nestas patologias.

2. DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS

As DII são representadas principalmente pela Doença de Crohn (DC) e pela Colite Ulcerosa (CU). Estas doenças caracterizam-se, genericamente, por uma produção exacerbada e descontrolada de mediadores pró-inflamatórios, tais como citocinas pró-inflamatórias e espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS), que conduz a uma inflamação

intestinal persistente, dano tecidual e disfunção da barreira intestinal, diferindo, essencialmente, na localização anatômica e no grau de envolvimento da parede do intestino.

Estas doenças, não tendo cura, exigem, tratamentos médicos ao longo de toda a vida, bem como intervenções cirúrgicas em situações mais drásticas (Baumgart & Sandborn, 2007).

2.1. Colite Ulcerosa e a Doença de Crohn

A CU trata-se de uma doença restrita ao cólon. A inflamação estende-se de forma contínua ao longo do cólon, afetando apenas a camada mucosa e submucosa, sem comprometimento das camadas mais profundas, exceto na doença fulminante (Baumgart & Sandborn, 2007).

Nesta patologia, duas características histológicas sugerem a sua cronicidade e permitem o diagnóstico diferencial, sendo estas a distorção da arquitetura das criptas e a sua redução em número, e a frequente infiltração de células inflamatórias, como linfócitos, macrófagos e neutrófilos. Estes últimos têm a capacidade de invadir as células epiteliais, dando origem a criptites, que culminam, por vezes, em abscessos das criptas (Baumgart & Sandborn, 2007; Baumgart & Sandborn, 2007; Kasper *et al.*, 2016).

Em termos clínicos, os pacientes podem apresentar diarreias sanguinolentas, passagem de pus e/ou muco, bem como cólicas intestinais, aquando da movimentação intestinal (Baumgart & Sandborn, 2007; Baumgart & Sandborn, 2007; Kasper *et al.*, 2016).

A DC é uma inflamação transmural, que pode afetar todo o trato gastrointestinal, desde a boca até ao ânus, embora as lesões apareçam preferencialmente no intestino delgado e/ou cólon. Esta apresenta ainda uma disposição segmentar, isto é, existem áreas não afetadas entre as áreas afetadas pela doença. O tecido intestinal obtido de doentes com DC ativa apresenta células inflamatórias de fase aguda e crónica, dentro da mucosa, submucosa e camada muscular própria (Baumgart & Sandborn, 2007).

Nesta patologia surgem ulcerações aftoides, criptites e agregados de macrófagos, que formam granulomas, sendo estes raramente detetados em biópsias da mucosa. Para além disto, a inflamação transmural é acompanhada por fissuras que penetram profundamente a parede intestinal e culminam, muitas vezes, em abscessos e fístulas (Baumgart & Sandborn, 2007; Kasper *et al.*, 2016).

Quando ativa, a DC leva ao espessamento e fibrose da parede intestinal, dando origem a obstruções intestinais crónicas e recorrentes (Baumgart & Sandborn, 2007).

A apresentação clínica depende da localização das lesões e estas podem fazer parte sintomas como diarreia, dor abdominal, febre, sinais clínicos de obstrução, bem como passagem de sangue e/ou muco (Kasper *et al.*, 2016).

2.2. Epidemiologia

Apesar da incidência e da prevalência das DII serem superiores nos países ocidentais, recentemente, a distribuição geográfica destas patologias tem vindo a sofrer alteração, verificando-se taxas crescentes em regiões como a Ásia, América do Sul e Europa Oriental, onde eram previamente reduzidas. Na base destas mudanças podem estar, quer a ocidentalização, quer a crescente imigração para estas regiões, enfatizando a importância dos fatores ambientais nestas doenças (Johan Burisch & Munkholm, 2013; Malik, 2015).

A CU e a DC podem ocorrer em qualquer faixa etária, sendo que a CU surge predominantemente entre os 20 e os 30 anos, e a DC entre os 30 e os 40 anos (Malik, 2015; Kasper *et al.*, 2016).

Quanto ao género, estas patologias não apresentaram diferenças consistentes (Malik, 2015).

Em termos étnicos, os caucasianos e os judeus apresentam maior incidência das DII, contudo, a incidência entre hispânicos e asiáticos está a aumentar (Malik, 2015; Kasper *et al.*, 2016).

2.3. Etiologia

Atualmente e, apesar da intensa investigação realizada nos últimos anos, a etiologia das DII não se encontra ainda esclarecida. No entanto, diversos estudos sugerem que uma interação dinâmica entre diversos fatores, incluindo suscetibilidade genética, microbiota intestinal, fatores ambientais e fatores imunológicos, possa estar na base da mesma. Desta interação, surge uma ativação inapropriada e sustentada do sistema imunitário, que se traduz num estado inflamatório persistente e danos na barreira epitelial intestinal (Veza *et al.*, 2016).

De facto, é atualmente aceite que as DII se encontram intimamente relacionadas com uma suscetibilidade genética que o doente apresenta em desenvolver uma resposta imune anormal e exacerbada face a um estímulo dito “normal” (Zhang & Li, 2014).

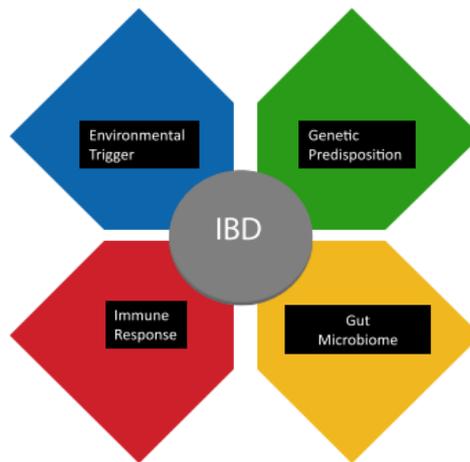


Figura 1: Interação entre os vários fatores que contribuem para a etiopatogenia das Doenças Inflamatórias Intestinais (Retirado de Malik, 2015).

2.3.1. Fatores genéticos

Dados recentes indicam que os fatores genéticos são um dos pilares da suscetibilidade às DII (Kaser, Zeissig, & Blumberg, 2010).

Múltiplos estudos têm demonstrado que a prevalência destas patologias é diferente dentro das populações, sendo o risco de desenvolver a doença superior em familiares de primeiro grau de pacientes afetados, suportando assim, a hereditariedade como um importante fator no desenvolvimento deste tipo de patologias (Kaser *et al.*, 2010; Podolsky, K., & Podolsky, 2002).

Dados obtidos por *screening* de DNA relacionam diversas regiões genômicas com o desenvolvimento deste tipo de doenças sendo, muitas destas, comuns a ambas patologias (Kaser *et al.*, 2010; Fiocchi, 2013).

2.3.2. Microbiota intestinal

Estudos recentes destacam o microbiota intestinal como o principal alvo da resposta inflamatória. Este influencia fortemente a função epitelial e imune do hospedeiro e, em pessoas acometidas por estas patologias, encontra-se num estado de disbiose, apresentando um número aumentado de bactérias enteroinvasivas ou aderentes, para as quais a resposta imune é direcionada (Veza *et al.*, 2016; Kasper *et al.*, 2016; Fiocchi, 2013).

2.3.3. Hipótese higiênica

As doenças autoimunes, como a esclerose múltipla, e as doenças inflamatórias, como as DII, apresentam uma prevalência acentuada nos países ocidentalizados, como foi acima referido (Helmy, 2015; Malik, 2015).

Na década de 70 surgiram os primeiros relatórios que apresentavam a possível relação entre os fatores ambientais e o desenvolvimento de determinadas doenças, sendo que uma década mais tarde surge a hipótese higiênica. Esta conjectura, que inicialmente relacionava a melhoria da qualidade de vida ao risco aumentado de desenvolver doenças alérgicas, sofreu expansão nas últimas décadas, englobando atualmente diversas patologias, como doenças autoimunes e inflamatórias (Helmy, 2015).

Estudos recentes têm destacado o contributo fundamental dos fatores ambientais na suscetibilidade a diversas doenças, como as DII, contudo os mecanismos que estão na base desta relação não se encontram totalmente definidos (Giacomin, Croese, Krause, Loukas, & Cantacessi, 2015).

2.3.4. Regulação imune

A imunidade inata é a primeira linha de defesa do organismo. Esta confere proteção imediata, auxilia na ativação do sistema imune adaptativo e é constituída por células da barreira intestinal, como células intestinais epiteliais, macrófagos, monócitos, neutrófilos, células dendríticas (CD), células *natural killer* (NK), eosinófilos e basófilos. Este conjunto de elementos apresenta a capacidade de iniciar uma resposta inflamatória, quando necessário, através da secreção de citocinas, quimiocinas e agentes antimicrobianos (Veza *et al.*, 2016). A inflamação é, normalmente, uma resposta fisiológica auto-limitada fundamental para manter a homeostase. Contudo, em alguns indivíduos, ocorre uma desregulação deste processo que se torna exacerbado e crónico, levando ao desenvolvimento de doenças inflamatórias crónicas.

Nas DII, a recorrente inflamação intestinal parece ter origem na estimulação continuada do sistema imune da mucosa por produtos das bactérias comensais e antígenos alimentares (Suzuki, 2013).

Alguns exemplos da ativação do sistema imune são a estimulação de recetores, existentes nas células da imunidade inata, como macrófagos e CD, com capacidade de reconhecer microrganismos e desencadear a produção de citocinas e quimiocinas, e a penetração dos

microrganismos na mucosa e a sua interação com células do sistema imune, especialmente DC e células linfoides, desencadeando uma resposta imune adaptativa (Veza et al., 2016; Kasper et al., 2016).

Nas DII, a ativação das principais células do sistema imunitário é acompanhada da produção de uma grande variedade de citocinas pro-inflamatórias (Interferão γ (IFN γ), o Fator de Necrose Tumoral α (TNF α), e a Interleucina 1 β (IL-1 β)), quimiocinas (Interleucina-8 (IL-8), *Macrophage Inflammatory Protein 2* (MIP-2) e *Monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1)), moléculas de adesão como a Molécula de Adesão Intercelular-1 (ICAM-1), assim como metabolitos do ácido araquidónico e espécies reativas de oxigénio (ROS) e de nitrogénio (RNS) (Veza et al., 2016). Estes mediadores, além de realçarem a resposta inflamatória, levam à destruição do tecido epitelial, que se repercute posteriormente na manifestação clínica da doença (Veza et al., 2016; Suzuki, 2013).

2.4. Mecanismos Moleculares subjacentes às Doenças Inflamatórias Intestinais

2.4.1. Stresse oxidativo

As células produzem durante o seu metabolismo espécies reativas de oxigénio (ROS) e de nitrogénio (RNS). Estas, em concentrações normais, são importantes moduladores de vias de sinalização celular e da expressão de genes, desempenhando um papel chave na regulação de funções celulares. Contudo, o aumento da sua concentração resulta em modificações oxidativas de várias biomoléculas como proteínas, lípidos e ácidos nucleicos e conduz a desregulação da sinalização redox, seja através da inativação de processos vitais e/ou da ativação/potenciação de cascatas de sinalização tóxicas, resultando, desta forma, em stresse oxidativo. Nos doentes com DII, ocorre no intestino uma produção elevada de ROS como o radical anião superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e de RNS como o óxido nítrico ($\bullet NO$) pelas células imunes ativadas e pelas próprias células intestinais epiteliais, gerando-se uma situação de stresse oxidativo, o qual desempenha um importante papel no processo inflamatório e no dano tecidular que ocorre nestas doenças (Pereira, Grácio, Teixeira, & Magro, 2015; Moret et al., 2014).

2.4.2. Disfunção da Barreira Epitelial Intestinal

A barreira epitelial intestinal, que consiste numa camada única de células epiteliais, representa uma importante barreira contra agentes exógenos (Groschwitz & Hogan, 2009).

A proteção concedida por esta estrutura advém da sua permeabilidade seletiva, que impede a passagem de substâncias nefastas provenientes do lúmen intestinal e permite a absorção de nutrientes, minerais e água (Yang, Bibi, Du, Suzuki, & Zhu, 2016).

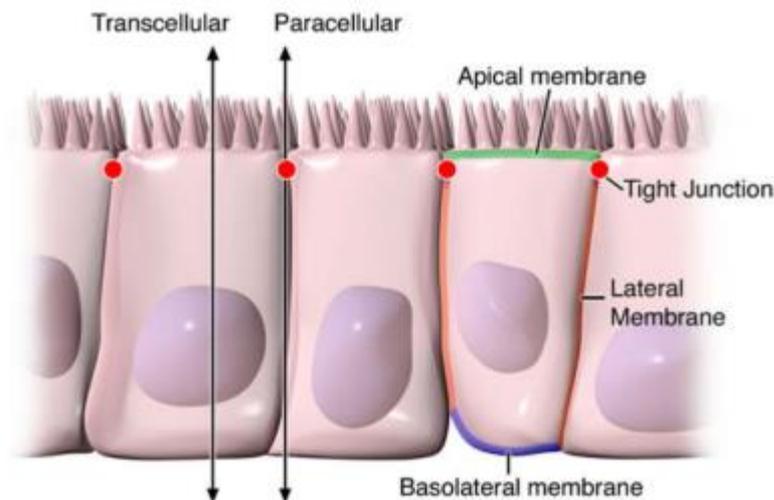


Figura 2: Mecanismos envolvidos na permeabilidade diferencial da barreira intestinal. Transporte de nutrientes através das células epiteliais por transportadores seletivos (Permeabilidade Transcelular). Transporte de íões, solutos e água através do espaço entre as células epiteliais, regulado, principalmente, pelas TJs (Permeabilidade Paracelular). (Retirado de Groschwitz & Hogan, 2009)

Dois vias principais, a via transcelular e a via paracelular, estão envolvidas na permeabilidade diferencial do epitélio intestinal. A primeira via envolve a absorção e transporte de diversos nutrientes como açúcares, aminoácidos, peptídeos, ácidos gordos, minerais e vitaminas, através das células epiteliais, por transportadores seletivos, localizados na membrana apical ou basolateral. A segunda via está associada ao transporte no espaço intercelular de células epiteliais adjacentes, sendo este regulado por um complexo apical juncional, constituído pelas *Adherence Junctions* (A) e por *Tight Junctions* (TJ) (Suzuki, 2013; Groschwitz & Hogan, 2009).

As TJs, localizadas na região mais apical das membranas laterais das células epiteliais, são complexos multiproteicos dinâmicos que providenciam uma barreira à passagem de moléculas nocivas como bactérias, toxinas e antígenos da dieta, enquanto permitem a passagem de íões, solutos e água no espaço intercelular (Suzuki, 2013). Estes complexos são constituídos por diferentes proteínas transmembranares como a ocludina, tricelulina, claudinas e moléculas de adesão juncional (MAJ) que interagem com proteínas intracelulares,

como as proteínas *zonula occludens* (ZO) e a cingulina, as quais, por sua vez fazem a ancoragem das primeiras à actina do citoesqueleto. A interação entre as TJs e o citoesqueleto é importantíssima para manter a estrutura e a função deste complexo.

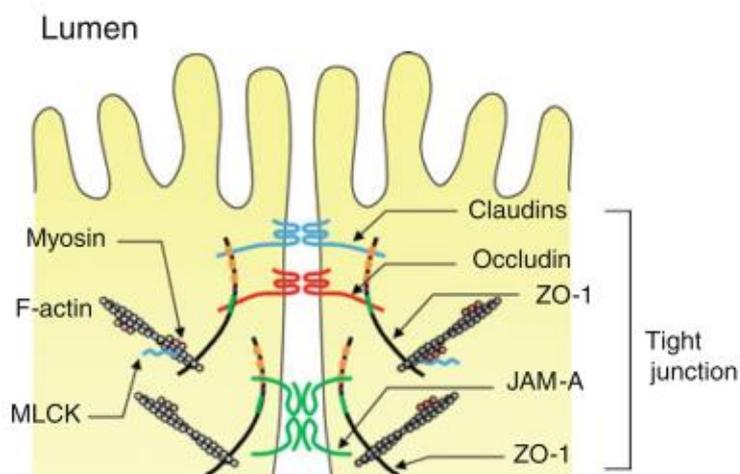


Figura 3: Estrutura das moléculas das *Tight Junctions* nas células epiteliais. As *Tight Junctions* são complexos multiproteicos constituídos por proteínas transmembranares (Ocludina, Claudinas, MAJ) que se ligam ao citoesqueleto da actina através de proteínas citosólicas (ZO e cingulina), sendo responsáveis pela regulação da permeabilidade paracelular (Adaptado de Suzuki, 2013).

Adicionalmente, a interação das TJs com o anel de actomiosina permite a regulação da integridade da barreira, uma vez que, quando as cadeias leves de miosina são fosforiladas, o anel de actomiosina contrai, resultando em abertura da via paracelular (Yang *et al.*, 2016).

Estudos recentes têm demonstrado que alterações na estrutura das TJs, provocadas por inúmeros estímulos como citocinas, espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, bactérias, álcool, alérgenos alimentares, entre outros, estão fortemente associados à patogênese de diversas doenças inflamatórias intestinais e sistêmicas. O aumento da permeabilidade a agentes nefastos, que se verifica devido à disrupção da permeabilidade seletiva da mucosa, provoca uma estimulação excessiva do sistema imune, que é responsável pelo estado inflamatório sustentado e danos tecidulares que se verificam nestas patologias (Yang *et al.*, 2016; Groschwitz & Hogan, 2009).

Dados recentes sugerem que o aumento da permeabilidade intestinal possa ser um dos primeiros fatores a contribuir para a patogênese das DII (Yang *et al.*, 2016).

2.4.3. Via de sinalização celular do fator Nuclear κ B (NF- κ B)

O fator nuclear κ B (NF- κ B) é um fator de transcrição importantíssimo na regulação da expressão de genes que desempenham papéis fulcrais na resposta imune, diferenciação, proliferação e apoptose (Hu, 2011; Wardyn, Ponsford, & Sanderson, 2015).

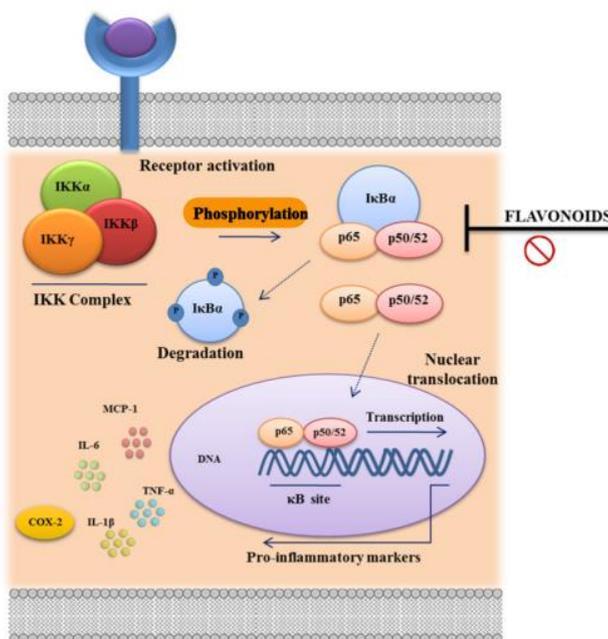


Figura 4: Esquemática da via do NF- κ B. Sinais externos ativam o complexo IKK, que induz a fosforilação e degradação do I κ B, permitindo a liberação do NF- κ B. O NF- κ B desloca-se seguidamente para o núcleo onde se liga a sequências específicas de DNA, que codificam diversos mediadores pró-inflamatórios (Retirado de Vezza *et al.*, 2016).

Em condições normais, o NF- κ B encontra-se no citoplasma, no estado inativo, ligado ao seu repressor I κ B (Veza *et al.*, 2016). A ligação de diversos agentes, como citocinas pró-inflamatórias, LPS e fatores de crescimento, aos respectivos recetores, desencadeia uma cascata de acontecimentos, dos quais faz parte a fosforilação e ativação do complexo enzimático cinase do I κ B (IKK) (Wardyn *et al.*, 2015). Este complexo, constituído por duas unidades catalíticas (IKK- α e IKK- β) e uma unidade reguladora (IKK- γ), uma vez ativado, fosforila o repressor I κ B, o qual é depois ubiquitinado e degradado, libertando o NF- κ B. Uma vez livre, o NF- κ B transloca para o núcleo, onde se liga a sequências específicas de DNA, promovendo a expressão de diversos genes pró-inflamatórios, tais como genes que codificam citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 e IL-8) e enzimas pró-inflamatórias (ciclooxigenase-2 (COX-2); isoforma indutível da sintase do óxido nítrico, (iNOS)) (Veza *et al.*, 2016).

Um estudo recente mostrou interessante que a fosforilação do I κ B é regulada por uma proteína, a LC8 (do inglês, *8-kDa dynein light chain protein*), (Jung, Kim, Min, Rhee, & Jeong, 2008). Em condições basais, a LC8 encontra-se ligada ao I κ B, inibindo a sua fosforilação pelo IKK. A oxidação de grupos tiólicos da LC8 resulta numa alteração da sua conformação, e conseqüentemente dissociação do I κ B, o que permite a fosforilação do I κ B pelo IKK (Jung *et al.*, 2008).

A estimulação persistente e anormal do NF- κ B tem sido associada à patogênese de inúmeras doenças, entre as quais as DII. Nestas, a ativação aumentada do NF- κ B influencia fortemente a inflamação da mucosa, uma vez que a transcrição de genes pro-inflamatórios se encontra constantemente estimulada (Atreya, Atreya, & Neurath, 2008).

2.4.4. Via de sinalização celular das Janus Kinases/Signal Transducer and Activator of Transcription (JAK/STAT)

A das *Janus Kinases/Signal Transducer and Activator of Transcription* (JAK/STAT) é uma via de sinalização e, tal como a via supracitada, desempenha um papel importante a nível celular, estando implicada em diversos processos, tais como o crescimento, proliferação, diferenciação celular, regulação de funções imunes e apoptose (Kim & Lee, 2007).

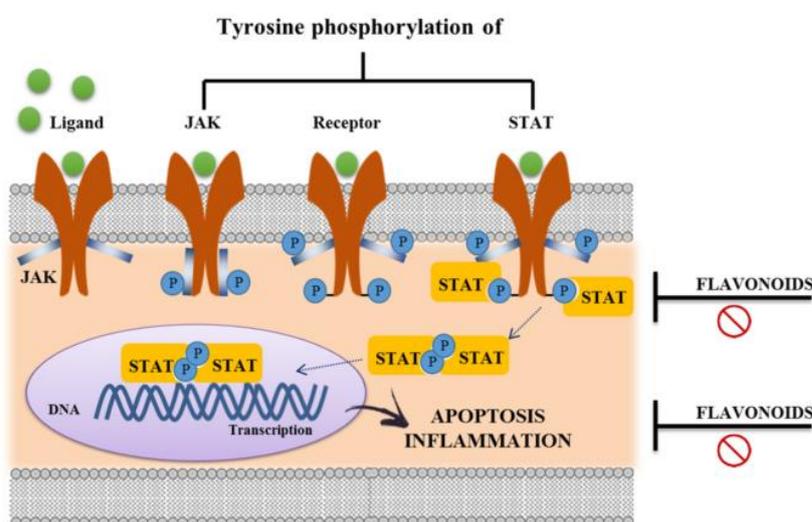


Figura 5: Esquemática da via das JAK-STAT. Estímulos externos induzem a dimerização do recetor e a conseqüente ativação das JAKs por auto e/ou trans-fosforilação. As JAKs ativas fosforilam o recetor, criando locais de ligação para as STATs. As STATs são assim recrutadas para o recetor, onde sofrem fosforilação pelas JAKs. As STATs ativas dimerizam e translocam para o núcleo onde ativam a expressão de genes que codificam mediadores inflamatórios e de morte celular (Retirado de Vezza *et al.*, 2016)

Diversas citocinas, incluindo certas interleucinas e interferões (Coskun, Salem, Pedersen, & Nielsen, 2013), iniciam esta cascata de sinalização através da sua ligação a recetores transmembranares específicos (Soufli, Toumi, Rafa, & Touil-Boukoffa, 2016). Após a ligação da citocina ao recetor, este sofre dimerização, permitindo a aproximação das JAKs ligadas ao recetor, que se ativam por auto e/ou trans-fosforilação. Subsequentemente, as JAKs, uma vez ativas, fosforilam resíduos específicos de tirosina no domínio citoplasmático do recetor, criando locais de ligação para as STAT. As STAT são, então, recrutadas para o recetor, onde são fosforiladas no resíduo de tirosina 701 pelas JAK, tornando-se ativas. Uma vez ativas, as STATs libertam-se do recetor, dimerizam e tranlocam para o núcleo, ativando a expressão de genes que codificam mediadores pró-inflamatórios, como citocinas e enzimas pró-inflamatórias e mediadores de morte celular (Kim & Lee, 2007; Coskun *et al.*, 2013; Kisseleva, Bhattacharya, Braunstein, & Schindler, 2002).

Uma ativação inapropriada e exagerada desta via de sinalização tem sido implicada no desenvolvimento de doenças inflamatórias como as DII. Apesar de várias citocinas induzirem a ativação das STAT1, o IFN- γ , citocina que desempenha um papel crucial nas DII, é o principal ativador desta via inflamatória, reforçando o seu papel crucial na patogénese das DII (Schreiber *et al.*, 2002).

3. TRATAMENTO FARMACOLÓGICO

Uma vez que a etiologia das DII não se encontra totalmente desvendada, nenhum fármaco específico que conduza à cura destas doenças foi ainda desenvolvido, sendo que os tratamentos farmacológicos atualmente utilizados visam apenas induzir e manter os períodos de remissão, evitar recidivas e tratar possíveis complicações intestinais e extra-intestinais, melhorando desta forma a qualidade de vida dos doentes (Veza *et al.*, 2016).

Assim, o arsenal medicamentoso passa, hoje em dia, essencialmente, pela utilização de 5-aminosalicilatos (como sulfasalazina e mesalazina) (Bernstein, 2015), corticosteroides (fármacos que apresentam vantagens quando utilizados a curto prazo, mas que a longo prazo não impedem o recurso a cirurgia e levam a dependência) (Siegel, 2011), imunossuppressores (como a mercaptopurina, azatioprina e metotrexato) (Siegel, 2011) e anticorpos anti-TNF (como o infliximab, natalizumab e adalimumab) (Bernstein, 2015). Todos os grupos farmacológicos citados, além da baixa eficácia, apresentam, ainda, como desvantagem

transversal graves efeitos adversos num elevado número de doentes, o que limita o seu uso (Veza *et al.*, 2016; Bernstein, 2015; Siegel, 2011).

Desta forma, é imperioso o desenvolvimento de alternativas terapêuticas seguras e eficazes capazes de prevenir ou até mesmo tratar as DII.

Neste contexto, recentemente, os polifenóis da dieta têm recebido grande atenção pela comunidade científica, havendo fortes evidências de que, devido à sua capacidade de modular importantes cascatas de sinalização associadas a processos fisiopatológicos como a inflamação, podem vir a constituir uma importante e inovadora estratégia no tratamento e/ou prevenção da DII (Hu, 2011).

4. POLIFENÓIS

Os polifenóis são metabolitos secundários das plantas, constituindo um grupo de compostos extremamente numeroso e amplamente distribuído no reino vegetal, estando presentes nas sementes, folhas, flores e frutos. Consequentemente, a sua ingestão em quantidades significativas ocorre em dietas que envolvam o consumo de frutos, vegetais, chá, azeite e vinho tinto, como é o caso da Dieta Mediterrânea (Tsao, 2010).

Vários estudos epidemiológicos sugerem que o seu elevado consumo oferece proteção contra o desenvolvimento de uma diversa gama de doenças, como doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, osteoporose, diabetes e certas formas de cancro (Tsao, 2010; Pandey & Rizvi, 2009).

Numerosos estudos *in vitro* demonstraram que os polifenóis possuíam propriedades antioxidantes, apresentando efeitos protetores contra agressões oxidativas em culturas celulares (Hu, 2011). Estes dados fizeram com que a sua utilização estivesse em voga nas últimas décadas. Contudo, a utilização *in vitro* de concentrações muito superiores (10 a 100 vezes) às encontradas no plasma (Hu, 2011), a metabolização dos polifenóis pelas bactérias, células intestinais e hepáticas durante a absorção, e a sua baixa biodisponibilidade, têm levantado questões quanto à efetividade da atividade antioxidante destes compostos *in vivo* (Fraga, Galleano, Verstraeten, & Oteiza, 2010). É de salvaguardar, no entanto, que no trato gastrointestinal os polifenóis podem exercer uma atividade antioxidante direta, uma vez que se trata do local do organismo onde a sua concentração é mais elevada e existe contacto direto com as células epiteliais antes destes compostos sofrerem absorção e metabolização (Hu, 2011).

Estudos recentes têm demonstrado que a atividade benéfica dos polifenóis para a saúde humana vai muito para além da sua capacidade antioxidante direta, sendo, atualmente, os seus efeitos atribuídos essencialmente à modulação de cascatas de sinalização e transcrição génica (Rahman, Biswas, & Kirkham, 2006). Estes conhecimentos recentes acerca dos mecanismos moleculares subjacentes aos benefícios dos polifenóis, vieram abrir portas para a utilização dos mesmos no tratamento das DII.

4.1. Estrutura e classificação

Quimicamente, os polifenóis apresentam na sua composição um ou mais anéis benzénicos aos quais se encontram ligados grupos hidroxilo (Fraga *et al.*, 2010). Estes compostos, com base na sua estrutura, podem ser divididos em flavonoides ou não flavonóides, sendo que os primeiros representam o maior componente dos polifenóis obtidos na alimentação (Del Rio *et al.*, 2013).

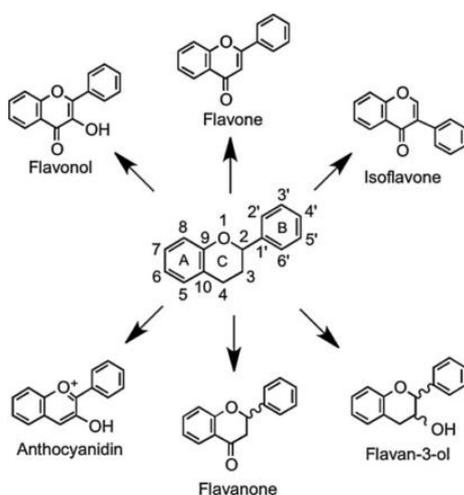


Figura 6: Estrutura química de flavonóides (Retirado de Del Rio *et al.*, 2013)

Os flavonóides são compostos polifenólicos que compreendem 2 anéis aromáticos (A e B) ligados por uma cadeia de 3 carbonos organizada sob a forma de um anel heterocíclico oxigenado (anel C), C6-C3-C6. As principais subclasses deste grupo de compostos são os flavonóis (como a quercetina e a rutina), as flavonas (como a luteolina), os flavanóis (como a epigalhocatiquina-3-galato), as flavanonas (como a naringenina), as isoflavonas (como a glabridina e a genesteína), e as antocianidinas (como cianidina-3-glucósido) (Veza *et al.*, 2016). Os grupos hidroxilo dos flavonoides podem estar na forma livre ou substituída, sendo que a última é a forma mais comum na natureza

(Del Rio *et al.*, 2013). Oligómeros e polímeros dos flavonoides são denominados taninos e dividem-se em 2 grupos, os taninos condensados, também designados de proantocianidinas, e os taninos hidrolisados (Fraga *et al.*, 2010).

Os polifenóis não flavonóides incluem compostos com diferentes estruturas. Os estilbenos, que estruturalmente compreendem 2 anéis aromáticos ligados por uma cadeia de 2 carbonos, C6-C2-C6, são fitoalexinas produzidas pelas plantas como resposta à infeção ou ferimentos; um derivado dos estilbenos extensamente estudado é o resveratrol (Del Rio *et*

al., 2013). Os ácidos fenólicos são compostos abundantes nos alimentos e estão divididos em 2 classes: os derivados do ácido benzoico, C1-C6, e os derivados do ácido cinâmico, C3-C6, (Del Rio *et al.*, 2013); o ácido gálico e o ácido cafeico são alguns exemplos (Pandey & Rizvi, 2009). Os linhanos são compostos di-fenólicos que têm uma estrutura 2,3-dibenzilbutano, formada graças à dimerização de 2 resíduos de ácido cinâmico (Pandey & Rizvi, 2009); estes compostos aparecem abundantemente em muitas sementes como é o caso do sésamo e do linho (Tsao, 2010).

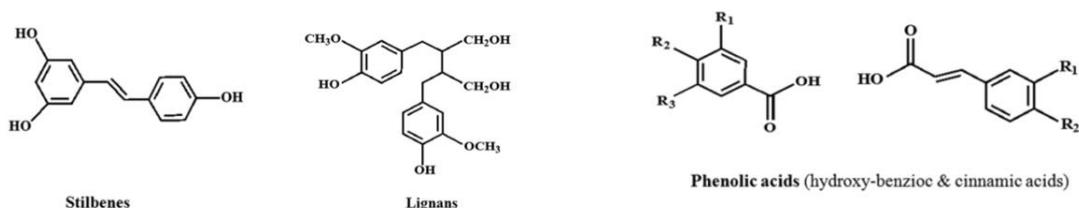


Figura 7: Estrutura química de polifenóis não flavonóides: estilbenos, linhanos e ácidos fenólicos (Adaptado de Pandey & Rizvi, 2009).

4.2. Mecanismos Moleculares subjacentes à atividade biológica dos polifenóis com impacto na inflamação intestinal

4.2.1. Efeito antioxidante

Como já foi referido, o stresse oxidativo desempenha um papel crucial no processo inflamatório e no dano tecidual associados às DII.

Neste contexto, os polifenóis podem ser benéficos na prevenção/tratamento das DII. Efetivamente, além de poderem exercer, no intestino, uma atividade antioxidante direta, neutralizando diversas espécies reativas, estes compostos da dieta, parecem ser capazes de exercer uma atividade antioxidante indireta, através da modelação da expressão de enzimas antioxidantes e citoprotetoras (Hu, 2011), conduzindo assim à diminuição do stress oxidativo e da inflamação (Veza *et al.*, 2016).

4.2.1.1. Modulação da via de sinalização celular do Nuclear factor-erythroid 2-related factor (Nrf2)

O Nrf2 (do inglês, *Nuclear factor-erythroid 2-related factor*) é um fator de transcrição essencial na regulação da expressão de enzimas antioxidantes e citoprotetoras, tais como a

NAD(P)H:quinone Oxidoreductase-1 (NQO1), (Superóxido Dismutase) SOD, Glutatião S-Transferase (GST), Glutatião Peroxidase (GPx), Heme Oxigenase-1 (HO-1); sendo fulcral na manutenção da homeostase celular (Surh, 2012).

Além de modular a defesa celular contra o stresse oxidativo, o Nrf2 apresenta ainda funções anti-inflamatórias, nomeadamente através da inibição da sinalização pelo NF-Kb, pelo que este fator de transcrição constitui um potencial alvo para novas abordagens terapêuticas de patologias inflamatórias, nomeadamente das DII.

O Nrf2 está presente na maioria dos tecidos, sendo abundante no cérebro, fígado, rim, trato gastrointestinal e pele (Singh, Vrishni, Singh, Rahman, & Kakkar, 2010). No seu estado inativo, encontra-se no citoplasma, conjugado com o seu repressor, Keap1 (do inglês, *Kelch-like ECH-associated protein*) (Surh, Kundu, & Na, 2008).

O Keap1, apresenta a capacidade de regular os níveis de Nrf2, visto servir de substrato adaptador a um complexo (*Cul3-dependent E3 ubiquitin ligase complex*) que ubiquitina múltiplos resíduos de lisina do Nrf2 levando à sua constante degradação proteossomal (Surh *et al.*, 2008). Compostos oxidantes ou com propriedades eletrofílicas levam à ativação do Nrf2. Pensa-se que na base desta ativação possam estar diferentes mecanismos, como a fosforilação de resíduos específicos de serina ou treonina do Nrf2 por cinases e/ou a estabilização do Nrf2 através da oxidação ou modificação covalente de resíduos de cisteína do Keap1 (Pandey & Rizvi, 2009; Surh *et al.*, 2008).

A fosforilação do Nrf2 por proteínas cinases, como as MAPK, PKC, ERK, leva à sua dissociação do repressor e conseqüente translocação para o núcleo. A oxidação ou modificação covalente de grupos tiólicos em resíduos de cisteína do Keap1 por compostos com propriedades oxidantes ou eletrofílicas induz uma modificação conformacional do Keap1 que resulta num bloqueio da ubiquitinação do Nrf2. Além do mais, o Keap1 modificado é ubiquitinado e sofre degradação proteossomal, o que permite a estabilização e translocação do Nrf2 para o núcleo (Singh *et al.*, 2010; Surh *et al.*, 2008).

No núcleo, o Nrf2 forma um heterodímero com a *small Maf*, ligando-se em seguida, a elementos de resposta antioxidante/eletrofílica (ARE/EpRE) localizados em regiões promotoras de genes que codificam várias enzimas e proteínas citoprotectoras e antioxidantes (Surh, 2012; Lee-Hilz *et al.*, 2006).

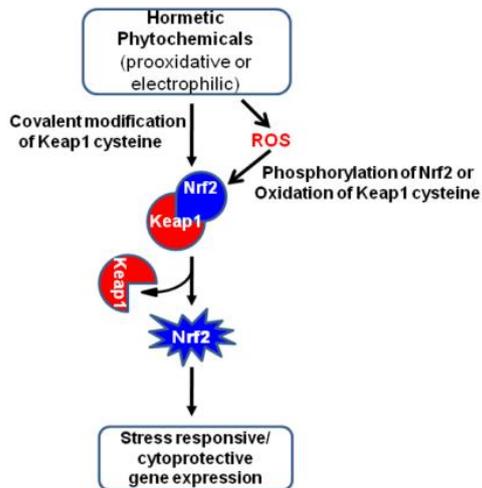


Figura 8: Mecanismo proposto para a ativação da via do Nrf2 por polifenóis (Retirado de Surh, 2012)

Os polifenóis, principalmente os que têm na sua estrutura um grupo catecol, podem, em condições fisiológicas, sofrer oxidação, espontânea ou enzimática, o que resulta na formação de quinonas ou semiquinonas e quantidades moderadas de ROS. As ROS têm a capacidade de ativar proteínas cinases, que levam à fosforilação do Nrf2, ou oxidar resíduos de cistina do Keap1, facilitando assim a dissociação do Nrf2 do seu repressor (Surh *et al.*, 2008).

Estas espécies reativas, que são consideradas letais para as células, quando em baixas concentrações, paradoxalmente, apresentam-se como parte integrante da resposta celular contra o stress oxidativo, uma vez que integram vias de sinalização que contribuem para o funcionamento e adaptação celular (Surh *et al.*, 2008; Surh, 2012).

As quinonas, devido às suas propriedades eletrofílicas, podem reagir covalentemente com os resíduos de cisteína do Keap1, levando à estabilização e translocação do Nrf2 para o núcleo (Surh, 2012).

Os polifenóis, com propriedades eletrofílicas, como é o caso da curcumina e do ácido carnósico, têm a capacidade de modificar covalentemente os resíduos de cisteína do Keap1, levando à estabilização do Nrf2 nuclear (Surh *et al.*, 2008).

A ativação desta via pelos polifenóis mostra que estes compostos da dieta proporcionam uma citoproteção baseada no conceito de hormese, ou seja, atuam como uma espécie de toxinas fracas que colocam as células num estado de alerta basal, o que permite que estas, quando sujeitas a posteriores estímulos agressores, respondam prontamente e de forma mais eficaz (Surh, 2012).

A modulação de defesas celulares endógenas por moléculas da dieta constitui uma estratégia inovadora para a intervenção terapêutica em doenças crónicas, como as DII.

4.2.2. Modulação da via do Fator Nuclear κ B (NF- κ B)

A modulação da via do NF- κ B tem sido intensamente investigada como possível alvo terapêutico em inúmeras doenças inflamatórias, como as DII. Efetivamente, nestas doenças, verifica-se uma desregulação desta via de sinalização, que se manifesta ultimamente numa produção exacerbada de mediadores inflamatórios (Veza *et al.*, 2016).

Apesar de muito se desconhecer ainda acerca dos mecanismos moleculares subjacentes aos efeitos verificados, os polifenóis parecem ter a capacidade de inibir a ativação do NF- κ B, atuando em diversos níveis da cascata de sinalização (Fraga *et al.*, 2010).

Um estudo recente demonstrou num modelo celular de inflamação intestinal que um extrato polifenólico de vinho tinto diminui quer a produção de mediadores pró-inflamatórios, como a IL-8 e o óxido nítrico, quer a expressão de enzimas pró-inflamatórias como a sintase do óxido nítrico indutível (iNOS) e a ciclooxigenase -2 (COX-2) através de vários mecanismos, nomeadamente, através da inibição da degradação do I κ B (Nunes *et al.*, 2013).

Estudos em modelos de inflamação têm associado a alguns polifenóis isolados, como a rutina, a capacidade de reduzir a fosforilação do I κ B. A não fosforilação deste repressor impede a sua degradação, o que impossibilita o deslocamento do Nf- κ B para o núcleo e a produção de mediadores pro-inflamatórios (Veza *et al.*, 2016).

Diversos polifenóis, como a naringenina, o kaempferol, a quercetina e a cardamonina, têm demonstrado a capacidade de regular negativamente a resposta imune exacerbada que se verifica em patologias inflamatórias através da inibição da via de sinalização TLR4/NF- κ B. Isto é benéfico, uma vez que a ativação do sistema imune, em particular a partir dos recetores TLR4, leva à produção de mediadores inflamatórios, como o TNF- α , que, por sua vez, conduzem a ativação do NF- κ B (Veza *et al.*, 2016).

Procianidinas diméricas B2 parecem ter a capacidade de interagir com o NF- κ B, prevenindo a sua ligação ao DNA, inibindo assim a transcrição génica (Fraga *et al.*, 2010).

É de salientar que, dado os polifenóis poderem atingir uma elevada concentração no intestino, é plausível que, neste local do organismo, possam exercer uma atividade antioxidante direta através da neutralização de ROS, o que poderá ter consequências na modulação desta via de sinalização (Hu, 2011; Galleano, Verstraeten, Oteiza, & Fraga, 2010). Efetivamente, os polifenóis ao diminuírem a concentração de ROS podem prevenir a oxidação da LC8 e a sua subsequente libertação do I κ B, evitando, desta forma, a fosforilação e degradação do I κ B.

4.2.3. Modulação da via das Janus Kinases/Signal Transducer and Activator of Transcription (JAK/STAT)

Uma vez que a via das JAK/STAT tem sido implicada em patologias com uma forte componente inflamatória, como é o caso das DII, a modulação da mesma pode representar uma mais valia terapêutica nestas doenças.

Neste contexto, alguns polifenóis têm demonstrado modular esta importante via de sinalização inflamatória.

Num modelo celular de inflamação intestinal, foi demonstrado, recentemente, que um extrato polifenólico de vinho tinto, diminui os níveis nucleares de STAT1 fosforilada (ativa), facto que se deve, pelo menos parcialmente, à inibição da fosforilação (ativação) das JAK1 (Nunes *et al.*, 2016).

Um outro estudo usando o mesmo modelo inflamatório demonstrou que o resveratrol, um estilbeno encontrado na uva preta e no vinho, e a cianidina-3-glucósido, uma antocianina abundante nos frutos, são capazes de diminuir os níveis de STAT1 fosforilada no núcleo induzidos por citocinas inflamatórias e assim inibir esta via inflamatória.

Alguns polifenóis parecem inibir a cascata das JAK/STAT através da ativação de alguns reguladores negativos desta via como é o caso das proteínas fosfatases de tirosina (PTP) e das proteínas Supressoras de sinalização de citocinas (SOCs). As PTPs, como a TC45, que pode atuar tanto no núcleo como no citoplasma, ou a SHP2, que atua no núcleo, quando ativadas por polifenóis, apresentam a capacidade de desfosforilar as STAT1, exercendo assim uma regulação negativa desta via (Coskun *et al.*, 2013; Nunes *et al.*, 2016; Kim & Lee, 2007). As PTPs podem também desfosforilar as JAK, levando à sua inativação.

As SOCs parecem regular negativamente a via das JAK/STAT através de mecanismos que envolvem a) a ligação às JAK ativadas e consequente inativação; b) ligação ao local de ligação para as STAT no recetor, impedindo desta forma o recrutamento das STAT e a sua ativação pelas JAK; c) marcação das STAT para degradação proteosomal (Crocker, Kiu, & Nicholson, 2008). A epigallocatequina-3-galato mostrou reduzir significativamente a fosforilação (ativação) das STAT1 (Kim & Lee, 2007) e ser capaz de induzir a expressão da SOCS-3 e da SOCS-1 em várias linhas celulares (Lee, Lin, Lee, Hsieh, & Yang, 2013; Ripley *et al.*, 2010).

4.2.4. Modulação das *Tight junctions*

A mucosa intestinal, como foi acima referido, é a mais importante barreira contra a difusão de moléculas provenientes do lúmen intestinal. Este efeito protetor deve-se, essencialmente, à permeabilidade diferencial da barreira, sendo as TJs as principais responsáveis por esta ação. Alterações na estrutura das TJs com consequente aumento da permeabilidade da barreira intestinal têm sido associadas ao desenvolvimento de inúmeras doenças, como as DII (Suzuki, 2013).

Apesar da informação neste campo de investigação ainda ser limitada, diversos estudos sugerem que certos componentes da dieta, nomeadamente os polifenóis, têm capacidade de promover e proteger a integridade da barreira intestinal contra estímulos tóxicos como citocinas inflamatórias e espécies reativas (Suzuki & Hara, 2011). Seguidamente serão apresentados alguns exemplos que demonstram a ação benéfica dos polifenóis nas TJs, através da modulação de cascatas de sinalização intracelular.

O estado de fosforilação das proteínas das TJs, como a ocludina e a ZO, está diretamente relacionada com a sua estrutura e função. Efetivamente, a fosforilação de resíduos de tirosina nestas proteínas, leva a uma diminuição da resistência elétrica transepitelial (RET), um indicador do aumento da permeabilidade das TJs (Suzuki & Hara, 2011). Neste contexto, a genisteína, uma isoflavona, mostrou capacidade de melhorar a disfunção da barreira intestinal induzida por stresse oxidativo através da inibição de proteínas cinases de tirosina.

Em células caco-2, a quercetina, um flavonol existente em elevada quantidade em frutos e vegetais, mostrou não só promover uma maior associação das proteínas das TJs, como a ZO-2, a ocludina e a claudina-1, ao citoesqueleto, como, também, aumentar a expressão da claudina-4, aumentando, desta forma a RET. Pensa-se que na base desta atividade benéfica da quercetina esteja a inibição da Proteína cinase C δ (PKC δ) (Suzuki & Hara, 2011).

As cinases de cadeias leves de miosina (KCLM) são uma família de proteínas cinases cuja função principal é fosforilar as cadeias leves de miosina, induzindo assim a contração da actomiosina. Um aumento da atividade das KCLM tem sido associado a um aumento da permeabilidade e disfunção da barreira intestinal epitelia (Yang *et al.*, 2016). Alguns polifenóis, como a berberina, apresentam a capacidade de reduzir a atividade destas cinases melhorando assim a funções das TJs (Yang *et al.*, 2016).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma vez que as DII são patologias para as quais não existe ainda um tratamento específico, diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de encontrar alternativas que preencham as lacunas existentes no arsenal terapêutico atualmente utilizado.

Os polifenóis da dieta, componentes naturais existentes nas plantas, parecem apresentar diversos benefícios para a saúde, sendo cada mais as evidências que suportam o seu uso.

Apesar dos mecanismos subjacentes às ações benéficas dos polifenóis não se encontrarem completamente esclarecidos, sabe-se, atualmente, que estes têm a capacidade de modular cascatas de sinalização celular, que se encontram desreguladas nestas patologias inflamatórias. Concretamente, os polifenóis não só aumentam as defesas celulares endógenas através da modulação da via do Nrf2, como, também, diminuem a produção de mediadores pro-inflamatórios, através da regulação negativa das vias inflamatórias das JAK-STAT e do NF-Kb. Além do mais, os polifenóis melhoram ainda a função da barreira intestinal, a qual se encontra comprometida nas DII.

Apesar de serem necessários estudos adicionais para a completa elucidação dos mecanismos subjacentes às suas ações, os polifenóis podem vir a constituir, por tudo acima apresentado, uma possível alternativa terapêutica para as DII.

REFERÊNCIAS

- Atreya, I., Atreya, R., & Neurath, M. F. (2008). NF- κ B in inflammatory bowel disease. *Journal of Internal Medicine*, 263(6), 591–596.
- Baumgart, D. C., & Sandborn, W. J. (2007). Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet*, 369(9573), 1641–1657.
- Bernstein, C. N. (2015). Treatment of IBD: where we are and where we are going. *The American Journal of Gastroenterology*, 110(1), 114–26.
- Burisch, J., & Munkholm, P. (2013). Inflammatory bowel disease epidemiology. *Current Opinion in Gastroenterology*, 29(4), 357–362.
- Burisch, J., & Munkholm, P. (2013). Inflammatory bowel disease epidemiology. *Current Opinion in Gastroenterology*, 29(4), 357–362.
- Coskun, M., Salem, M., Pedersen, J., & Nielsen, O. H. (2013). Involvement of JAK/STAT signaling in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Pharmacological Research*, 76, 1–8.
- Crocker, B. A., Kiu, H., & Nicholson, S. E. (2008). SOCS regulation of the JAK/STAT signalling pathway. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 19(4), 414–422.
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P. E., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(14), 1818–92.
- Fiocchi, C. (2013). Inflammatory bowel disease.
- Fraga, C. G., Galleano, M., Verstraeten, S. V., & Oteiza, P. I. (2010). Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. *Molecular Aspects of Medicine*, 31(6), 435–445.
- Galleano, M., Verstraeten, S. V., Oteiza, P. I., & Fraga, C. G. (2010). Antioxidant actions of flavonoids: Thermodynamic and kinetic analysis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 501(1), 23–30.
- Giacomin, P., Croese, J., Krause, L., Loukas, A., & Cantacessi, C. (2015). Suppression of inflammation by helminths: a role for the gut microbiota? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 370(1675), 20140296-.

- Groschwitz, K. R., & Hogan, S. P. (2009). Intestinal barrier function: Molecular regulation and disease pathogenesis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 124(1), 3–20.
- Helmby, H. (2015). Human helminth therapy to treat inflammatory disorders - where do we stand? *BMC Immunology*, 16, 12.
- Hu, M.-L. (2011). Dietary polyphenols as antioxidants and anticancer agents: more questions than answers. *Chang Gung Medical Journal*, 34(SEPTEMBER 2011), 449–60.
- Jung, Y., Kim, H., Min, S. H., Rhee, S. G., & Jeong, W. (2008). Dynein light chain LC8 negatively regulates NF-kappaB through the redox-dependent interaction with IkappaBalpha. *The Journal of Biological Chemistry*, 283(35), 23863–23871.
- Kaser, A., Zeissing, S., & Blumberg, R. (2010). Inflammatory bowel disease, 573–620.
- Kasper, D. L., Hauser, S. L., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., & Loscalzo, J. (2016). *Harrison's Principles of Internal Medicine* (19th ed.).
- Kim, H. S., & Lee, M. S. (2007). STAT1 as a key modulator of cell death. *Cellular Signalling*, 19(3), 454–465.
- Kisseleva, T., Bhattacharya, S., Braunstein, J., & Schindler, C. W. (2002). Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. *Gene*, 285(1–2), 1–24.
- Lee-Hilz, Y. Y., Boerboom, A. M. J. F., Westphal, A. H., Van Berkel, W. J. H., Aarts, J. M. M. J. G., & Rietjens, I. M. C. M. (2006). Pro-oxidant activity of flavonoids induces EpRE-mediated gene expression. *Chemical Research in Toxicology*, 19(11), 1499–1505.
- Lee, I., Lin, C., Lee, C., Hsieh, P., & Yang, C. (2013). Protective effects of (–)-epigallocatechin-3-gallate against TNF- α -induced lung inflammation via ROS-dependent ICAM-1 inhibition ☆. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(1), 124–136.
- Malik, T. A. (2015). Inflammatory Bowel Disease. Historical Perspective, Epidemiology, and Risk Factors. *Surgical Clinics of North America*, 95(6), 1105–1122.
- Moret, I., Cerrillo, E., Navarro-Puche, A., Iborra, M., Rausell, F., Tortosa, L., & Beltrán, B. (2014). Estrés oxidativo en la enfermedad de Crohn. *Gastroenterología Y Hepatología*, 37(1), 28–34.
- Nunes, C., Ferreira, E., Freitas, V., Almeida, L., Barbosa, R. M., & Laranjinha, J. (2013). Intestinal anti-inflammatory activity of red wine extract: unveiling the mechanisms in

- colonic epithelial cells. *Food & Function*, 4(3), 373–83.
- Nunes, C., Teixeira, N., Serra, D., Freitas, V., Almeida, L., & Laranjinha, J. (2016). Red wine polyphenol extract efficiently protects intestinal epithelial cells from inflammation via opposite modulation of JAK/STAT and Nrf2 pathways. *Toxicol. Res.*, 5(1), 53–65.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, 2(5), 270–278.
- Pereira, C., Grácio, D., Teixeira, J. P., & Magro, F. (2015). Oxidative Stress and DNA Damage. *Inflammatory Bowel Diseases*, 21(10), 1.
- Podolsky, D. K., K., P. D., & Podolsky, D. K. (2002). Inflammatory Bowel Disease. *New England Journal of Medicine*, 347(6), 417–429.
- Rahman, I., Biswas, S. K., & Kirkham, P. A. (2006). Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols, 72, 1439–1452.
- Ripley, B. J. M., Fujimoto, M., Serada, S., Ohkawara, T., Nishikawa, T., Terabe, F., ... Naka, T. (2010). Green tea polyphenol epigallocatechin gallate inhibits cell signaling by inducing SOCS1 gene expression, 22(5), 359–366.
- Schreiber, S., Rosenstiel, P., Hampe, J., Nikolaus, S., Groessner, B., Schottelius, A., ... Seegert, D. (2002). Activation of signal transducer and activator of transcription (STAT) I in human chronic inflammatory bowel disease. *Gut*, 51, 379–385.
- Siegel, C. A. (2011). Review article: Explaining risks of inflammatory bowel disease therapy to patients. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 33(1), 23–32.
- Singh, S., Vrishni, S., Singh, B. K., Rahman, I., & Kakkar, P. (2010). Nrf2-ARE stress response mechanism: a control point in oxidative stress-mediated dysfunctions and chronic inflammatory diseases. *Free Radic. Res.*, 44(11), 1267–1288.
- Soufli, I., Toumi, R., Raza, H., & Touil-Boukoffa, C. (2016). Overview of cytokines and nitric oxide involvement in immuno-pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*, 7(3), 353.
- Surh, Y. J. (2012). Nrf2, an essential component of cellular stress response, as a potential target of hormetic phytochemicals. *Journal of Food and Drug Analysis*, 20(SUPPL.1), 217–219.
- Surh, Y. J., Kundu, J. K., & Na, H. K. (2008). Nrf2 as a master redox switch in turning on the

- cellular signaling involved in the induction of cytoprotective genes by some chemopreventive phytochemicals. *Planta Medica*, 74(13), 1526–1539.
- Suzuki, T. (2013). Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70(4), 631–659.
- Suzuki, T., & Hara, H. (2011). Role of flavonoids in intestinal tight junction regulation. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(5), 401–408.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231–1246.
- Veza, T., Rodríguez-Nogales, A., Algieri, F., Utrilla, M. P., Rodríguez-Cabezas, M. E., & Galvez, J. (2016). Flavonoids in inflammatory bowel disease: A review. *Nutrients*, 8(4).
- Wardyn, J. D., Ponsford, A. H., & Sanderson, C. M. (2015). Dissecting molecular cross-talk between Nrf2 and NF- κ B response pathways. *Biochemical Society Transactions*, 43(4), 621–6.
- Yang, G., Bibi, S., Du, M., Suzuki, T., & Zhu, M.-J. (2016). Regulation of the intestinal tight junction by natural polyphenols: a mechanistic perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 8398(April), 00–00.
- Zhang, Y.-Z., & Li, Y.-Y. (2014). Inflammatory bowel disease: pathogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, 20(1), 91–9.

