



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Patrícia Isabel Machado Oliveira

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Mecanismos de Neurodegeneração na Doença de Alzheimer e a sua Modulação por Polifenóis” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Daniela Magalhães 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 de 2020



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

**Patrícia Isabel Machado Oliveira**

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Mecanismos de Neurodegeneração na Doença de Alzheimer e a sua Modulação por Polifenóis” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Daniela Magalhães e da Professora Doutora Carla Maria dos Santos Nunes apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2020

Eu, Patrícia Isabel Machado Oliveira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n° 2015243855, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Mecanismos de Neurodegeneração na Doença de Alzheimer e a sua Modulação por Polifenóis” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 14 de setembro de 2020.

Patrícia Isabel Machado Oliveira

(Patrícia Isabel Machado Oliveira)

## **Agradecimentos**

À minha família, em especial aos meus pais, por todo o apoio e por estarem sempre presentes. Sem eles esta oportunidade não teria sido possível.

Aos amigos, principalmente os que se mantiveram ao longo destes 5 anos em todos os momentos e etapas, sejam eles bons ou maus.

A toda a equipa da Farmácia LimaLixa, por me acolherem ao longo do meu estágio e por toda a aprendizagem que me proporcionaram.

À Professora Doutora Carla Nunes, por toda a ajuda e disponibilidade na conclusão da monografia e desta etapa.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, por todos os ensinamentos, ao longo deste percurso.

A Coimbra.

A todos vós, muito obrigada!

# Índice

## Parte I: Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

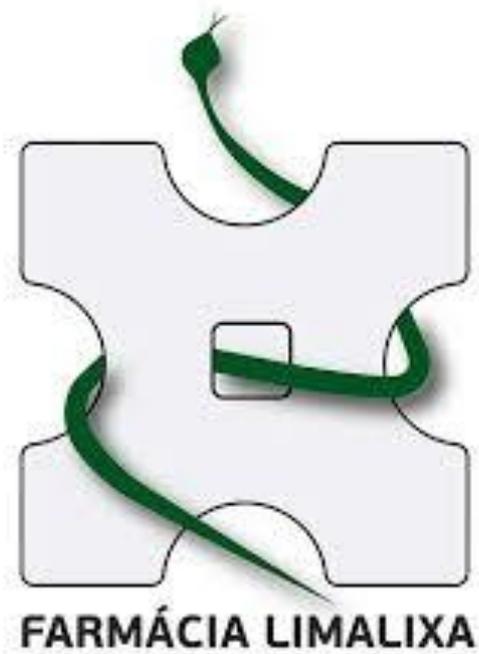
Lista de Abreviaturas .....	7
1. Introdução.....	8
2. Análise SWOT .....	9
2.1. Pontos Fortes – <i>Strengths</i> .....	9
2.1.1. Conhecimento prévio da Farmácia e da sua Equipa .....	9
2.1.2. Única Estagiária .....	9
2.1.3. Aprendizagem Gradual.....	9
2.1.4. Prestação de Serviços e Cuidados de Saúde Diferenciados .....	10
2.1.5. Sifarma2000® e Fidelização de Utentes .....	11
2.1.6. Período de Estágio .....	11
2.2. Pontos Fracos – <i>Weakness</i> .....	12
2.2.1. Aconselhamento ao Utente .....	12
2.2.2. Medicamentos Manipulados .....	12
2.3. Oportunidades – <i>Opportunities</i> .....	13
2.3.1. Formações Contínuas.....	13
2.3.2. Venda de Outros Produtos de Saúde.....	13
2.3.3. Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de Forma Diferenciada .....	14
2.4. Ameaças – <i>Threats</i> .....	14
2.4.1. Pandemia .....	14
2.4.2. Medicamentos Esgotados a Nível Nacional.....	14
2.4.3. Legibilidade da Prescrição Manual .....	15
3. Casos Clínicos.....	15
Considerações Finais.....	17
Referências Bibliográficas .....	18

## Parte II: “Mecanismos de Neurodegeneração na Doença de Alzheimer e a sua Modulação por Polifenóis.”

Resumo .....	20
Abstract .....	21
Lista de Abreviaturas .....	22
I. Doença de Alzheimer.....	24
I.1. Introdução .....	24
I.2. Epidemiologia.....	24
I.3. Etiologia e Subtipos da Doença de Alzheimer .....	25
I.4. Mecanismos de Neurodegeneração .....	26
I.4.1. Placas Senis e Tranças Neurofibrilares.....	26
I.4.1.1. A cascata $\beta$ -amilóide .....	26
I.4.1.2. Proteína Tau.....	27
I.4.2. Disfunção Mitocondrial.....	28
I.4.3. Stresse Oxidativo .....	30
I.4.4. Excitotoxicidade .....	33
I.4.5. Neuroinflamação .....	35

1.4.6. Disfunção Vascular .....	37
1.5. Terapêutica .....	40
2. Os Polifenóis .....	41
2.1. Estrutura Química .....	41
2.2. O Papel dos Polifenóis da Dieta na Doença de Alzheimer .....	42
2.2.1. Quercetina .....	42
2.2.2. Resveratrol.....	44
2.2.3. Curcumina.....	45
Considerações Finais.....	47
Referências Bibliográficas .....	48

# **Parte I: Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária**



Orientado por Dra. Daniela Magalhães

## **Lista de Abreviaturas**

**FC** – Farmácia Comunitária

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MNSRM** – Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

**MSRM** – Medicamento Sujeito a Receita Médica

**SWOT** – *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

## **I. Introdução**

A Farmácia Comunitária (FC) é a faceta mais visível da profissão, sendo o primeiro local que os utentes recorrem em questões de saúde. Assim, o farmacêutico desempenha um papel determinante como agente de saúde, não só nas questões da área do medicamento, mas também na promoção da saúde, através do incentivo a comportamentos mais saudáveis e pela disponibilização de vários serviços essenciais à saúde dos utentes. O farmacêutico exerce a sua função centrando-se na saúde e bem-estar do cidadão em geral, promovendo o direito de acesso a um tratamento com qualidade, eficácia e segurança. Contudo, a área das ciências farmacêuticas e médicas está em constante evolução, tendo o farmacêutico o dever de manter as suas capacidades técnicas e científicas atualizadas para melhorar a sua atividade perante a sociedade (1,2).

Assim, no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), o Estágio Curricular em Farmácia Comunitária surge integrado no plano de estudos, sendo de extrema importância para os futuros farmacêuticos. Durante o estágio, temos a oportunidade de praticar e desenvolver os conhecimentos científicos adquiridos ao longo da nossa formação académica, assim como adquirir novos conhecimentos que contribuem para o nosso futuro como profissionais de saúde.

O presente relatório sob a forma de análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*) visa demonstrar os pontos fortes e fracos no decorrer do estágio, assim como, as oportunidades e as ameaças observadas. O estágio decorreu na Farmácia LimaLixa localizada na Vila Cova da Lixa, Felgueiras, com início a 6 de janeiro e término a 3 de agosto de 2020, sob orientação da Dra. Daniela Magalhães e com a colaboração das restantes profissionais que integram a equipa.

## **2. Análise SWOT**

A análise SWOT subdivide-se em dimensão interna, que avalia os pontos fortes e os pontos fracos, e em dimensão externa, avaliando as oportunidades e as ameaças.

### **2.1. Pontos Fortes – Strengths**

#### **2.1.1. Conhecimento prévio da Farmácia e da sua Equipa**

O facto de ter realizado um estágio extracurricular anteriormente na Farmácia LimaLixa, permitiu-me ter um conhecimento prévio das áreas da farmácia, assim como da sua equipa e um pouco da dinâmica de trabalho. Assim, estava também familiarizada com o Sifarma2000®, o que tornou possível uma evolução mais rápida em algumas tarefas no decorrer do estágio.

#### **2.1.2. Única Estagiária**

No decorrer do meu estágio na Farmácia LimaLixa tive a oportunidade de ser a única estagiária, sendo um ponto positivo para a minha evolução, pois a atenção acaba por estar mais centrada nas minhas ações, detetando mais rapidamente pequenas falhas no meu desempenho.

Ao longo dos vários meses de aprendizagem, toda a equipa demonstrou ser muito atenciosa para comigo, dando auxílio nas diferentes tarefas e, assim, permitindo o aumento da minha confiança, tanto a nível interno, como em questões relacionadas com o utente. A disponibilidade para o esclarecimento de qualquer tipo de dúvida era uma constante, fosse algo relacionado com alguma tarefa atribuída ou questões relacionadas com o aconselhamento. Este apoio constante ao meu desempenho, para além do esclarecimento de dúvidas, permitia a correção de erros na realização das tarefas, de modo a melhorar estes aspetos e numa próxima vez desempenhar a tarefa da forma mais correta.

#### **2.1.3. Aprendizagem Gradual**

Ao longo do estágio a aprendizagem foi gradual, tendo a oportunidade de executar várias tarefas. Numa fase inicial, as tarefas centravam-se na receção e armazenamento das encomendas, para de certa forma me familiarizar com os produtos e os seus respetivos locais de arrumo, o que facilita numa fase seguinte o atendimento. Realizei também contagens físicas de determinados produtos/marcas para confirmar se os *stocks* estavam corretos, executei algumas tarefas relacionadas com o controlo de validades, retirando os produtos com o prazo

próximo do fim para posterior devolução ao respetivo fornecedor ou laboratório. Ainda nesta fase inicial, comecei a desenvolver algum contacto com os utentes, na realização de medições de parâmetros bioquímicos.

Na fase de atendimento, comecei a acompanhar os elementos da equipa observando alguns dos atendimentos e a trabalhar com o Sifarma2000® e o Novo Módulo de Atendimento do Sifarma. Deste modo, pude reter a forma como direcionam os atendimentos e algumas das questões-chave que colocam aos utentes nos aconselhamentos. Após este período observacional, começa a fase mais desafiante em que tento colocar em prática todos os conhecimentos científicos adquiridos na formação académica, surgindo nesta fase mais dúvidas e questões, principalmente ao nível do aconselhamento, muitas vezes por falta de confiança e por não estar ainda familiarizada com determinado grupo de produtos. Por vezes, para satisfazer as necessidades dos utentes, foi necessário realizar encomendas instantâneas ou mesmo entrar em contacto com os fornecedores para esclarecer a disponibilidade desses produtos.

Por fim, no final de cada mês, auxiliava na verificação e organização do receituário, o qual era separado nos diferentes planos e lotes para posteriormente se proceder à sua faturação. Algumas funções como as encomendas diárias aos fornecedores, as regularizações das devoluções, a organização da documentação das campanhas, entre outras, pelo grau de responsabilidade foram apenas explicadas, mas no decorrer do estágio pude ir observando.

#### **2.1.4. Prestação de Serviços e Cuidados de Saúde Diferenciados**

A Farmácia LimaLixa dispõe de um gabinete de apoio ao utente, onde se prestam serviços de medição de parâmetros bioquímicos, como a glicémia, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, pressão arterial e o índice de massa corporal. Para além destes, possuem o serviço de administração de injetáveis, apenas efetuado por farmacêuticos e de furação de orelhas, tendo a respetiva formação. No entanto, apresentam mais dois serviços por parte de entidades externas, sendo estes a consulta de audiologia e a depilação a laser.

Ao longo do estágio, tive oportunidade de realizar várias medições de parâmetros bioquímicos no próprio gabinete de apoio ao utente e, ainda, participar num rastreio a doenças cardiovasculares com a colaboração da Wellion®. Inicialmente, estas medições foram o primeiro contacto com os utentes, sendo relevante para o ganho de confiança destes. Na realização destas medições é importante a interpretação dos resultados obtidos, percebendo se estão entre os valores de referência. Quando os valores não são os recomendados, temos

espaço para interagir com o utente, alertando para a importância de introduzir hábitos mais saudáveis no dia-a-dia e aconselhar a contactar o seu médico de família.

Estes serviços apresentam elevada importância porque cada vez mais existe um maior número de pessoas que desenvolvem patologias como dislipidemia, obesidade, hipertensão arterial e diabetes *Mellitus*. Pela proximidade entre farmacêutico e utente, existe a oportunidade de alertar para estes problemas de saúde e ajudar o utente com pequenas mudanças dos seus hábitos a ganhar mais qualidade na sua saúde.

### **2.1.5. Sifarma2000® e Fidelização de Utentes**

O *software* Sifarma2000® é um aliado na gestão e atendimento na farmácia comunitária. Este sistema disponibiliza informação técnica e científica atualizada sobre os variadíssimos produtos numa farmácia, sejam eles medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) ou não sujeitos a receita médica (MNSRM). Assim, permite o esclarecimento de dúvidas, pois consultando a informação que nos disponibiliza, conseguimos verificar a existência de interações medicamentosas, as contraindicações, quais as reações adversas e a frequência em que podem ocorrer, indica a posologia e até as indicações terapêuticas. Esta ferramenta permite tornar o aconselhamento mais fundamentado e o mais correto para as características do utente em causa, sendo de relevante importância para quem está a começar.

Este *software* permite criar a ficha cliente, sendo possível para as farmácias fidelizar os seus utentes. Com a criação da ficha cliente, a farmácia tem acesso a vários dados relevantes e à medida que o utente se desloca à farmácia, vai ficando registada a medicação ou outros produtos de saúde que utiliza habitualmente. Muitas vezes este registo na ficha cliente facilita o atendimento, pois permite rapidamente identificar qual a preferência do utente entre medicamento de marca e genérico, assim como, identificar o laboratório de uso recorrente. No atendimento, verifica-se muitas vezes que existe a dificuldade em reconhecer qual o laboratório de uso recorrente por parte dos utentes, mas por vezes, estes não aceitam a troca por um outro. Assim, a fidelização do cliente facilita a dispensa dos medicamentos e diminui o risco de não adesão à terapêutica.

### **2.1.6. Período de Estágio**

O estágio teve a duração de 810 horas, tendo uma paragem pelo meio devido à pandemia gerada pelo coronavírus (COVID-19) em todo o mundo, prolongando-se por mais

tempo e, assim, pude contactar com variadíssimas classes de MNSRM, principalmente os sazonais.

Inicialmente, a solicitação de MNSRM centrou-se em antigripais, antitússicos, descongestionantes e anti-histamínicos, estando relacionado com a época mais fria do ano e com a época primaveril, onde é maior a ocorrência de alergias. Com a chegada do verão iniciava-se uma nova época sazonal, onde os protetores solares, produtos para as queimaduras, as picadas de insetos e repelentes são os principais pedidos. O facto de atravessar diferentes épocas sazonais, permitiu aprofundar ainda mais os conhecimentos em diferentes situações e produtos.

## **2.2. Pontos Fracos – *Weakness***

### **2.2.1. Aconselhamento ao Utente**

A formação académica recebida é essencialmente teórica, não havendo contacto com os utentes, para além dos estágios extracurriculares que vão sendo realizados. Este facto dificulta, numa primeira instância, os primeiros contactos com os utentes, por não sentir total confiança tanto nos meus conhecimentos científicos, como na perceção dos problemas/queixas dos utentes e também em situações completamente novas.

Contudo, ao longo do estágio deparei-me com a dificuldade de ser mais espontânea na comunicação com os utentes e na criação de relações de confiança. Por vezes, esta dificuldade gera-se na insensibilidade dos utentes, que se deslocam à farmácia com pressa ou que demonstram desagrado ao serem questionados, o que cria barreiras e dificulta a transmissão dos conhecimentos.

### **2.2.2. Medicamentos Manipulados**

O medicamento manipulado é qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico. Estes medicamentos são excepcionais e apenas se podem realizar quando não existe no mercado a formulação na dosagem e forma farmacêutica pretendida (3).

No decorrer do estágio, auxiliei apenas na preparação de um manipulado simples, pois a farmácia, por norma não executa manipulados, pedindo externamente sempre que necessário. Sendo assim, quando surge uma receita para um destes medicamentos, contactam

para pedir um orçamento e de seguida para iniciar a produção. Portanto, o meu contacto com o laboratório foi reduzido.

## **2.3. Oportunidades – *Opportunities***

### **2.3.1. Formações Contínuas**

O farmacêutico ao longo da sua carreira tem de continuar a atualizar os seus conhecimentos técnicos e científicos, visto que a área da saúde se encontra em constante evolução. Assim, as formações são fundamentais para aumentar ou aperfeiçoar os conhecimentos sobre produtos novos no mercado ou já existentes, de forma a realizar o melhor aconselhamento possível aos utentes.

Ao longo do estágio, tive a oportunidade de assistir a várias formações, essencialmente relacionadas com dermofarmácia e cosmética, uma área na qual não estava à vontade pela falta de conhecimento que apresentava, contudo, as formações foram de relevante importância no sentido de melhorar este aspeto. No fundo, senti que as formações permitem simplificar todo o processo de aquisição de conhecimentos, sendo diretamente transmitidas as informações mais pertinentes e a ter mais atenção no aconselhamento. Assim, senti que as formações influenciavam positivamente o ganho de conhecimento e também de confiança na transmissão da informação para com os utentes.

### **2.3.2. Venda de Outros Produtos de Saúde**

A vasta gama de produtos existentes na farmácia, como os suplementos e vitaminas, os cosméticos e cada vez mais a existência de produtos de origem natural são um constante desafio, pois a formação académica recebida não aborda de forma aprofundada algumas destas categorias. Assim, o contacto com esta variedade de produtos, ao longo do estágio, é muito benéfica, pois permite obter novos conhecimentos, que são fundamentais para solucionar eventuais queixas e dúvidas por parte dos utentes. Sendo muito importante salientar, que o farmacêutico deve promover o uso racional de qualquer tipo de produto e, assim, o contacto com estes produtos e toda a ajuda da equipa da farmácia permite que, nós estagiários, ganhemos experiência e uma maior capacidade de ação perante as solicitações dos utentes.

### **2.3.3. Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de Forma Diferenciada**

Hoje em dia, a venda de MNSRM ocorre em vários pontos, não sendo necessariamente numa farmácia. Contudo, os farmacêuticos conseguem destacar-se na forma como dispensam este tipo de medicamentos, devido a toda a informação que se recebe não só pela formação académica, mas também pelas formações e experiência ao longo dos anos. Diariamente, o farmacêutico recebe solicitações de MNSRM e pelo seu dever de promover o uso racional do medicamento tenta perceber qual será a melhor abordagem para a situação de cada utente, minimizando os riscos de reações adversas, de interações medicamentosas e de ineficácia.

Assim, o estágio curricular mais uma vez permite, aos estagiários o ganho de experiência para sermos profissionais que marcamos a diferença na transmissão da informação e na dispensa dos medicamentos, realizando um atendimento personalizado para cada utente.

## **2.4. Ameaças – Threats**

### **2.4.1. Pandemia**

A pandemia gerada pela rápida transmissão do coronavírus e que chegou a todo o mundo veio alterar o funcionamento das farmácias em Portugal. Se antes havia um enorme contacto e proximidade com os utentes, de modo a que se sintam à vontade com os profissionais. Agora e durante o estado mais crítico, esse contacto tão próximo não se verifica devido a todas as barreiras criadas para manter todos em segurança.

Ao nível do estágio, tive uma interrupção de cerca de dois meses, o que dificultou a consolidação dos conhecimentos adquiridos, pois quando começo a estar familiarizada com uma série de produtos de venda sazonal, tenho de abandonar o estágio, tanto pela minha segurança como dos meus. Ao regressar ao estágio, já numa nova época sazonal, é quase como voltar ao início devido à requisição de outras categorias de produtos em que ainda não me encontrava familiarizada.

### **2.4.2. Medicamentos Esgotados a Nível Nacional**

Durante estes meses de estágio, pude verificar a existência de medicamentos de uso crónico esgotados, sendo impossível realizar encomenda durante semanas ou mesmo meses. São exemplos o Serenal<sup>®</sup> 50 mg e o Victan<sup>®</sup>, para os quais não há alternativas terapêuticas equivalentes, o que gera um desconforto aos utentes, pois acabam por ficar sem a sua

medicação. Por outro lado, os utentes teriam de se deslocar a uma nova consulta com o seu médico, onde seria avaliada a situação e, assim, proceder à alteração da prescrição para uma outra dosagem ou substância ativa. Neste último caso, a nova substância ativa pode não desempenhar o mesmo efeito.

Apesar de todos os contactos com fornecedores na tentativa de repor estes medicamentos, por vezes, nem uma previsão existe para a disponibilidade do medicamento em causa. Toda esta situação acaba por prejudicar o setor farmacêutico, pois leva a uma perda de confiança do utente para com os farmacêuticos ao ser colocado em causa o direito de os cidadãos adquirirem a medicação que lhe é instituída.

Como estagiária, sinto que é uma falha no meu desempenho, pois fico, indiretamente, impedida de satisfazer os cuidados necessários aos utentes.

#### **2.4.3. Legibilidade da Prescrição Manual**

Em determinadas situações, como as falências informáticas, domicílios, entre outras, os médicos podem recorrer a prescrição manual. As receitas manuais podem gerar mais erros porque, por vezes, a legibilidade dificulta a interpretação da prescrição. Assim, no decorrer do estágio, sentia receio e recorria sempre a um elemento da equipa para confirmar ou ajudar na interpretação da receita manual.

### **3. Casos Clínicos**

#### Caso I

Uma senhora, solicita um medicamento para a sua filha de 14 anos, dizendo que se encontra com dor de garganta e tosse. Questiono se tem alguma patologia, como diabetes ou a nível respiratório, se a tosse é com expetoração e se esta se encontra presa. Ao qual a senhora responde negativamente quanto às patologias e refere que a tosse é com expetoração. Assim, recomendo Flumucil® 4%, um antitússico que ajuda a fluidificar a expetoração, indicando que nas primeiras tomas poderá ocorrer mais tosse, pois xarope começa a fluidificar/desprender a expetoração, Ibuprofeno 400 mg, um anti-inflamatório para o alívio da dor de garganta e Macifen®, umas pastilhas anti-inflamatórias para ao longo do intervalo da toma de Ibuprofeno aliviar a dor de garganta. Recomendo que se a dor persistir por mais de 3 dias deve consultar um médico.

## Caso 2

Um senhor que se dirige à farmácia após um procedimento dentário e que traz consigo uma prescrição médica para o Clonix<sup>®</sup>, um analgésico com capacidade de desempenhar ação antipirética e anti-inflamatória. O senhor questiona se este medicamento poderá prejudicar a sua patologia, pois apresenta uma neoplasia a nível renal. Pela consulta da informação científica, disponibilizada no Sifarma2000<sup>®</sup>, verifico que este medicamento apresenta uma contraindicação de grau ligeiro para situações relacionadas com insuficiência renal. Sendo um grau ligeiro, recomendo que o senhor tome o medicamento em caso de não suportar mesmo a dor, não ultrapassando as três tomas diárias e evitando prolongar a toma por vários dias.

## **Considerações Finais**

O estágio curricular em Farmácia Comunitária é um marco fundamental no final da nossa formação académica, onde podemos colocar em prática todos os conhecimentos adquiridos ao longo da formação teórica. Para além de colocar em prática, estamos também a consolidar estes conhecimentos. Contudo, ao longo dos vários meses que passámos junto de equipas com grande experiência, estamos a aprender muito mais. Por um lado, adquirimos diariamente novos conhecimentos por sermos colocados à prova pelos utentes, mas por outro, aprendemos a trabalhar em equipa e a centrar o nosso trabalho no bem-estar dos utentes, de forma a satisfazer as suas necessidades.

Durante este período ficou claro a importância que as farmácias apresentam na vida das pessoas. As pessoas recorrem em primeira instância à farmácia para se aconselharem ou resolverem algum problema de saúde, mas não só. Estes profissionais pela proximidade com a população são vistos como uma figura amiga, que está pronta para ouvir e dar algum conforto.

Considero que toda a experiência que vivi durante o estágio me enriqueceu e que será muito útil para o futuro que se avizinha como farmacêutica. Claro que ainda existem alguns aspetos a melhorar, mas com a prática ganharei ainda mais aptidões para desempenhar esta bonita profissão.

## Referências Bibliográficas

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS. - **A Farmácia Comunitária**. [Acedido a 13 de agosto de 2020]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS. - **Regulamentos**. [Acedido a 18 de agosto de 2020]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/a-ordem-dos-farmaceuticos/regulamentos/>
3. INFARMED. - **Medicamentos manipulados**. [Acedido a 18 de agosto de 2020]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/inspecao-medicamentos/medicamentos-manipulados>

**Parte II: “Mecanismos de  
Neurodegeneração na Doença de  
Alzheimer e a sua Modulação por  
Polifenóis.”**

Orientado por Professora Doutora Carla Maria dos Santos Nunes

## Resumo

A Doença de Alzheimer (DA) é a doença neurodegenerativa mais prevalente e representa, também, o tipo mais comum de demência, afetando principalmente indivíduos acima dos 65 anos. Trata-se de uma doença extremamente incapacitante que se caracteriza, fundamentalmente, por um declínio progressivo das capacidades cognitivas, o que acaba por levar à dependência de terceiros para a realização das tarefas da rotina diária.

A neurodegeneração que ocorre, principalmente, ao nível do hipocampo e córtex cerebral, a presença de placas senis, constituídas por agregados de peptídeos  $\beta$ -amilóide, e as tranças neurofibrilares, compostas pela proteína tau hiperfosforilada são as marcas neuropatológicas mais características da DA.

Vários estudos têm evidenciado que aglomerados anormais de peptídeos A $\beta$  e de proteína tau hiperfosforilada, a disfunção mitocondrial, o stresse oxidativo, a excitotoxicidade, a neuroinflamação e a disfunção cerebrovascular desempenham um papel chave na degeneração e morte neuronal que ocorre na DA. No entanto, atualmente, a etiologia da DA é ainda enigmática, permanecendo largamente por esclarecer o que despoleta tais mecanismos de neurodegeneração. Além do mais, a terapêutica farmacológica existente é ineficaz, pois não tem efeito curativo, atuando apenas no alívio da sintomatologia da doença e na melhoria da qualidade de vida dos doentes e seus cuidadores. Tal facto, torna urgente o desenvolvimento de estratégias terapêuticas capazes de, eficazmente, prevenir e/ou travarem a neurodegenerescência. Neste contexto, importa referir que os polifenóis da dieta, devido, essencialmente, à sua capacidade de modular vias de sinalização celular e a transcrição de genes, têm sido alvo de inúmeros estudos e são, atualmente, considerados moléculas promissoras para o desenvolvimento de novas terapêuticas para o tratamento da DA.

A presente monografia tem como principal objetivo a elucidação de vários mecanismos moleculares envolvidos na neurodegeneração que ocorre na DA e a sua modulação por alguns polifenóis da dieta.

**Palavras-Chave:** Doença de Alzheimer; peptídeo  $\beta$ -amilóide; proteína tau; disfunção mitocondrial; stresse oxidativo; neuroinflamação; disfunção cerebrovascular; polifenóis da dieta.

## **Abstract**

Alzheimer's Disease (AD) is the most prevalent neurodegenerative disease and also represents the major common type of dementia, affecting mainly individuals over 65 years. It is an extremely disabling disease that is characterized, fundamentally, by a progressive decline in cognitive capabilities, which ultimately leads to dependence on others to perform the tasks of daily routine.

The neurodegeneration that occurs mainly at the hippocampus and cerebral cortex, the presence of senile plaques, made up of aggregates of peptides  $\beta$ -amyloid, and neurofibrillary tangles, made up of hyperphosphorylated tau protein are the most characteristic neuropathological marks of AD.

Several studies have shown that abnormal aggregates of peptides  $A\beta$  and hyperphosphorylated tau protein, mitochondrial dysfunction, oxidative stress, excitotoxicity, neuroinflammation and cerebrovascular dysfunction play a key role in the degeneration and neuronal death that occurs in AD. However, currently, the etiology of AD is still enigmatic, remaining largely unclear what triggers such mechanisms of neurodegeneration. Moreover, the pharmacological therapy is clearly ineffective, because it has no curative effect, only relieving the symptoms of the disease and improving the quality of life of patients and their caregivers. Therefore, it is urgent the development of new therapeutic strategies able to effectively to prevent and/or limit the neurodegeneration. In this context, it is important to note that dietary polyphenols, due to their ability to modulate cell signaling pathways and gene transcription, have been the target of numerous studies and, they are considered promising molecules for the development of new therapies for the treatment of AD.

The main goal of this monography is the elucidation of several molecular mechanisms involved in the neurodegeneration that occurs in AD and its modulation by some dietary polyphenols.

**Keywords:** Alzheimer's disease;  $\beta$ -amyloid peptide; tau protein; mitochondrial dysfunction; oxidative stress; neuroinflammation; cerebrovascular dysfunction; dietary polyphenols.

## Lista de Abreviaturas

- NO** – Óxido Nítrico
- 4-HNE** – 4-Hidroxinonenal
- AChE** – Acetilcolinesterase
- AICD** – Domínio Intracelular Amilóide
- AMPA** –  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-propionato
- ApoE** – Apolipoproteína E
- APP** – Proteína Precursora Amilóide (Do inglês: *Amyloid Precursor Protein*)
- ARE** – Elemento de Resposta Antioxidante
- A $\beta$**  – Peptídeo  $\beta$ -Amilóide
- BACE1** – Enzima de clivagem proteolítica de APP no local beta (Do inglês: *Beta-Side Amyloid Cleaving Enzyme*)
- BHE** – Barreira Hematoencefálica
- CAA** – Angiopatia Amilóide Cerebral (Do inglês: *Cerebral Angiopathy Cerebral*)
- Cdk5** – Cinase 5 Dependente da Ciclina
- DA** – Doença de Alzheimer
- DAMPs** – Padrões Moleculares Associados a Danos (Do inglês: *Damage-Associated Molecular Pattern*)
- EAAT** – Transportador de Aminoácidos Excitatórios (Do inglês: *Excitatory Amino-Acid Transporter*)
- FSC** – Fluxo Sanguíneo Cerebral
- GLUT-1** – Transportador da glucose 1 (Do inglês: *Glucose Transporter 1*)
- GPX** – Glutatião Peroxidases
- GSH** – Glutatião
- GSK3 $\beta$**  – Cinase 3 $\beta$  da Sintase do Glicogénio
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** – Peróxido de Hidrogénio
- HIF-1 $\alpha$**  – Fator Induzido por Hipoxia 1 $\alpha$  (Do inglês: *Hipoxia-Inducible Factor 1 $\alpha$* )
- HO•** – Radical Hidroxilo
- I $\kappa$ B** – Proteína Inibidora de NF- $\kappa$ B
- IL-6** – Interleucina 6
- KA** – Cainato
- Keap1** – Kelch-like ECH-Associated Protein 1
- LRPI** – Recetor da lipoproteína de baixa densidade relacionada com a proteína 1
- MDA** – Aldeído Malónico

**MnSOD** – Superóxido Dismutase dependente de Manganésio

**NF-kB** – Fator Nuclear Kappa B

**NFTs** – Tranças Neurofibrilares (Do inglês: Neurofibrillary Tangles)

**NMDA** – N-Metil -D-Aspartato

**Nrf2** – Nuclear factor-erythroid 2-relates factor-2

**O<sub>2</sub><sup>-•</sup>** – Radical Anião Superóxido

**OCDE** – Organização para Cooperação e Desenvolvimento Económico

**OMS** – Organização Mundial de Saúde

**ONOO-** – Peroxinitrito

**PAMPs** – Padrões Moleculares Associados a Patogénios (Do inglês: *Pathogen-Associated Molecular Pattern*)

**Pi** – Fosfato Inorgânico

**PP2A** – Proteína Fosfatase-2A

**PRRs** – Recetores de Reconhecimento de Padrões (Do inglês: *Pattern Recognition Receptors*)

**Psen1** – Presenilina 1

**Psen2** – Presenilina 2

**PTP** – Poro de Permeabilidade Transitória

**PUFAs** – Ácidos Gordos Polinsaturados (Do inglês: *Polyunsaturated Fatty Acids*)

**RNS** – Espécies Reativas de Nitrogénio (Do inglês: *Reactive Nitrogen Species*)

**ROS** – Espécies Reativas e Oxigénio (Do inglês: *Reactive Oxygen Species*)

**sAPP $\alpha$**  – Fragmento da Proteína Precursora Amilóide  $\alpha$ -Solúvel

**sAPP $\beta$**  – Fragmento da Proteína Precursora Amilóide  $\beta$ -Solúvel

**SCARA-I** – Recetor Scavenger AI

**SIRT1** – Sirtuína I

**SNC** – Sistema Nervoso Central

**SOD** – Superóxido Dismutase

**SSRIs** – Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina

**TIM23** – Translocase da Membrana Interna 23

**TLR** – Recetores Toll-Like

**TNF- $\alpha$**  – Fator de Necrose Tumoral Alfa

**TOM40** – Translocase da Membrana Externa Mitocondrial 40

**UNV** – Unidade Neurovascular

## **I. Doença de Alzheimer**

### **I.1. Introdução**

A Doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa que se caracteriza pela progressiva degeneração e morte neuronal em algumas áreas cerebrais, principalmente, no córtex e no hipocampo, o que conduz a um declínio contínuo e irreversível da função cognitiva (1,2).

Os sintomas iniciais da doença são muitas vezes subtis, mas, com o avançar dos danos cerebrais começam a ser mais notórios e graves. Inicialmente, os doentes podem apresentar alguma dificuldade em lembrar certas situações e com o progredir da doença, começam a desenvolver dificuldades mais persistentes, como esquecer-se de pessoas, lugares ou acontecimentos recentes, apresentar discursos vagos e repetitivos, até chegar ao ponto em que deixam de conseguir desempenhar atividades da sua rotina diária e passam a depender de terceiros. A progressão da doença apresenta ritmos diferentes de indivíduo para indivíduo e depende das áreas cerebrais afetadas (1).

A presença de placas senis ou neuríticas resultantes da acumulação extracelular do peptídeo Beta Amilóide ( $A\beta$ ) e de Tranças Neurofibrilares (NFTs) compostas por agregados intracelulares da proteína tau hiperfosforilada, constituem duas importantes características neuropatológicas da DA (2). Por norma, estas alterações proteicas ocorrem vários anos antes do aparecimento dos primeiros sintomas da doença e tem-lhes sido atribuído um papel importante no desenvolvimento desta doença neurodegenerativa (1).

### **I.2. Epidemiologia**

A DA é a doença neurodegenerativa mais prevalente (3). Além do mais, a DA constitui o tipo de demência mais comum, representando, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 60-70% de todos os casos de demência (4,5).

Embora existam evidências de que a patologia se começa a instalar e desenvolver na meia idade, os primeiros sintomas surgem, normalmente, após os 65 anos (1). Assim, a estimativa para a incidência por ano para a população acima dos 65 anos, é de 1 a 3% de novos casos e a prevalência ronda os 10 a 30% de casos totais por ano (6). Estes parâmetros epidemiológicos aumentam com a idade, duplicando a cada 5 anos após a sexta década de vida (3).

Os estudos epidemiológicos relativos à DA em Portugal são escassos. Em 2013, estimava-se que mais de 160 mil portugueses sofressem de demência, sendo que 80 a 112 mil seriam doentes com DA (3). De acordo com um relatório elaborado pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Económico (OCDE), “Health at a Glance 2019”, a estimativa do número de casos de demência em Portugal em 2019 seria perto de 200 mil, número que se estima subir para cerca de 405 mil casos até 2050 (7). Efetivamente, sendo Portugal um país com um elevado envelhecimento demográfico, é de esperar que a incidência e prevalência de demência e de DA aumentem significativamente ao longo dos anos (3).

### **1.3. Etiologia e Subtipos da Doença de Alzheimer**

A etiologia da DA não se encontra ainda completamente esclarecida. Efetivamente, cerca de 95-99% dos casos de DA são idiopáticos (DA esporádica), sendo apenas cerca de 1-5% dos casos associados a mutações em genes específicos (DA familiar) (8,9).

A DA esporádica pode afetar adultos de qualquer idade, mas habitualmente ocorre, tal como já referido, após os 65 anos. Atualmente é considerada multifatorial, resultando de uma complexa interação entre vários fatores. A idade é um importante fator de risco para o desenvolvimento de DA esporádica, sendo, no entanto, de notar que só por si não é suficiente para desencadear esta doença neurodegenerativa. A presença do alelo  $\epsilon 4$  da apolipoproteína E (ApoE), o qual está associado a um aumento da agregação e/ou decréscimo da clearance do peptídeo  $\beta$ -amilóide ( $A\beta$ ), constitui o fator de risco genético mais importante para o desenvolvimento desta forma de DA (4,10). Além do mais, fatores relacionados com o estilo de vida, tais como sedentarismo e hábitos tabágicos, a presença de outras comorbilidades como doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade, entre outras, constituem importantes fatores de risco modificáveis para o desenvolvimento de DA (11).

Na DA familiar, os primeiros sintomas desenvolvem-se, por norma, bem antes dos 65 anos, iniciando-se, em média por volta dos 45 anos (4,12). Na DA familiar ocorre a transmissão de uma mutação autossómica dominante de geração em geração. Estas mutações ocorrem, normalmente, nos genes que codificam a proteína precursora amilóide (APP) e subunidades catalíticas da enzima  $\gamma$ -secretase como a presenilina 1 (Psen1) e a presenilina 2 (Psen2). Tais mutações resultam numa alteração do processamento proteolítico da APP e levam ao aumento da produção e agregação de peptídeos  $A\beta$  (10,13).

## **1.4. Mecanismos de Neurodegeneração**

Atualmente, existem fortes evidências de que os depósitos anormais do peptídeo A $\beta$  e da proteína tau hiperfosforilada, a disfunção mitocondrial, o stresse oxidativo, a excitotoxicidade, a neuroinflamação e a disfunção cerebrovascular, desempenham um papel chave no desenvolvimento e progressão da DA (14). Tais mecanismos serão abordados de seguida.

### **1.4.1. Placas Senis e Tranças Neurofibrilares**

A DA, tal como já referido anteriormente, é caracterizada pela presença de placas senis, formadas por depósitos de peptídeos A $\beta$ , que se agregam no espaço extracelular, e de NFTs, constituídas por agregados intracelulares de proteína Tau hiperfosforilada (15). A acumulação destes aglomerados proteicos tem sido relacionado com a perda progressiva das capacidades cognitivas, parecendo desempenhar um importante papel na neurodegeneração (13).

#### **1.4.1.1. A cascata $\beta$ -amilóide**

A hipótese da cascata amilóide atribui ao peptídeo A $\beta$  um papel central na disfunção e morte neuronal. A formação de peptídeo A $\beta$  encontra-se relacionada com a APP e o seu processamento proteolítico.

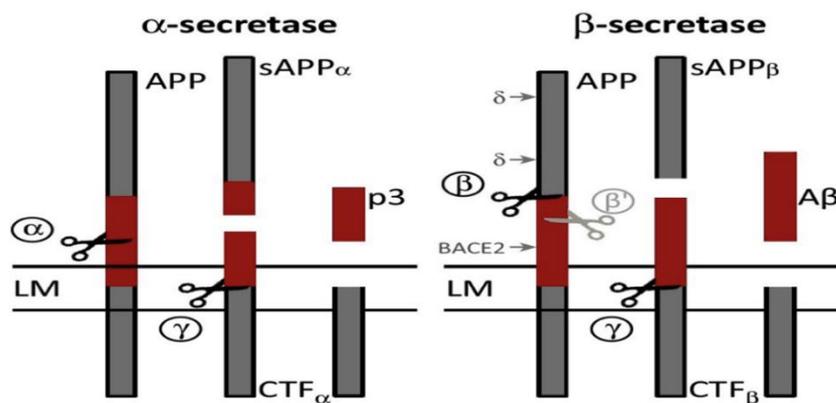
A APP é uma glicoproteína transmembranar. Esta proteína pode ser processada proteoliticamente através de duas vias: a não amiloidogénica e a amiloidogénica (Figura 1) (16).

- **A via não amiloidogénica**

A via não amiloidogénica é o processo mais comum na clivagem da APP. Inicialmente, a APP sofre clivagem por parte da enzima  $\alpha$ -secretase, o que origina um fragmento neuroprotetor, o fragmento da proteína precursora amilóide  $\alpha$ -solúvel (sAPP $\alpha$ ) e um fragmento C-terminal, composto por 83 aminoácidos, o C83, o qual permanece na membrana (16,17). O fragmento sAPP $\alpha$  inibe a apoptose neuronal, aumenta a resistência neuronal a lesões e é crucial na plasticidade sináptica, aprendizagem e memória (17). O fragmento C83 sofre clivagem, pela  $\gamma$ -secretase originando um pequeno peptídeo, o p3, e o domínio intracelular amilóide (AICD) (16,18).

- **A via amiloidogénica**

Pela via amiloidogénica ocorre a formação de peptídeos A $\beta$ , os quais derivam do processamento da APP pela ação sequencial de duas enzimas, a  $\beta$ -secretase I (BACE1) e a  $\gamma$ -secretase. Aquando da clivagem pela BACE1 ocorre a libertação do fragmento da proteína precursora amiloide  $\beta$ -solúvel (sAPP $\beta$ ), ficando retido na membrana um fragmento C-terminal com 99 aminoácidos, o C99. Este último sofre clivagem pela  $\gamma$ -secretase, originando peptídeos A $\beta$  (18). Estes peptídeos apresentam diferentes tamanhos, pois a clivagem pode ocorrer em diferentes locais. Os peptídeos A $\beta$ 40 e A $\beta$ 42, com respetivamente 40 e 42 aminoácidos, são os principais peptídeos formados numa percentagem aproximada de 90% a 10%, respetivamente (16,18). Os peptídeos apresentam a capacidade de agregar em pequenas estruturas oligoméricas neurotóxicas e, posteriormente em fibrilas, que estão na base da formação das placas senis (16). O peptídeo A $\beta$ 42, embora se forme em menor quantidade, é mais propenso a agregar, sendo considerado um dos maiores fatores de patogenicidade na DA (18). Além dos agregados extracelulares.



**Figura 1** – Processamento proteolítico de APP pela  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -secretase (Adaptado de (19)).

Atualmente e, contrariamente ao que era inicialmente postulado, existem fortes evidências de que serão as formas oligoméricas solúveis e difusíveis as responsáveis por desencadear mecanismos de toxicidade que levam à disfunção sináptica, degeneração e morte neuronal, e não as fibrilas insolúveis ou as placas senis (20).

#### **1.4.1.2. Proteína Tau**

A proteína tau localiza-se, normalmente, nos axónios e está associada aos microtúbulos, sendo responsável pela sua estabilização, o que facilita o transporte axonal. Na DA verifica-se uma hiperfosforilação desta proteína, a qual parece ocorrer após a formação de placas senis. A tau hiperfosforilada perde afinidade para os microtúbulos, dissocia-se destes

e agrega sob a forma de filamentos helicoidais insolúveis, os quais se acumulam e agregam, formando as NFTs (21,22). A hiperfosforilação da proteína tau compromete seriamente a sua função, provocando alterações do transporte axonal e disfunção sináptica (22–24).

Um desequilíbrio entre a atividade de cinases, nomeadamente da cinase 5 dependente de ciclinas (Cdk5) e da cinase  $3\beta$  da sintase do glicogénio (GSK3 $\beta$ ), e fosfatases, como a proteína fosfatase-2A (PP2A), parece desempenhar um papel importante na anormal hiperfosforilação da tau (22,25). Neste contexto, importa referir que vários estudos demonstram que o peptídeo A $\beta$  tem capacidade de estimular a atividade de cinases envolvidas na fosforilação da proteína tau (25).

Aquando da morte neuronal, as NFTs são libertadas e tornam-se extracelulares (“tranças fantasma”). Evidências recentes sugerem que os oligómeros de tau também são secretados para o meio extracelular. A tau alterada propaga-se de célula a célula afetando gradualmente várias áreas cerebrais. A progressão espaço-temporal correlaciona-se com a gravidade do declínio cognitivo (21,23).

#### **1.4.2. Disfunção Mitocondrial**

Como é amplamente sabido, uma das principais funções da mitocôndria é a produção de ATP através do processo de fosforilação oxidativa. A cadeia respiratória mitocondrial localiza-se na membrana interna da mitocôndria e é constituída por quatro complexos enzimáticos: a NADH desidrogenase (Complexo I), a succinato desidrogenase (Complexo II), a ubiquinol-citocromo c oxidorreductase (Complexo III), a citocromo c oxidase (Complexo IV). Eletrões do NADH e do FADH<sub>2</sub> são transferidos para o complexo I e complexo II, respetivamente. Estes eletrões são depois transferidos ao longo da cadeia respiratória até ao oxigénio, o qual é reduzido a água. Este processo gera energia necessária para os complexos I, III e IV ejetarem prótons da matriz mitocondrial para o espaço intermembranar, gerando-se, assim, uma diferença de potencial eletroquímico que é utilizado pela ATP sintetase na produção de ATP a partir de ADP e fosfato inorgânico (Pi) (26).

Além da produção de ATP, a mitocôndria exerce outras importantes funções, sendo de referir a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) e de nitrogénio (RNS), a manutenção da homeostase de cálcio e a regulação da morte celular (26).

Uma disfunção da mitocôndria terá, pois, um impacto extremamente negativo nos neurónios, podendo levar à sua degeneração e morte. Neste contexto, vários estudos

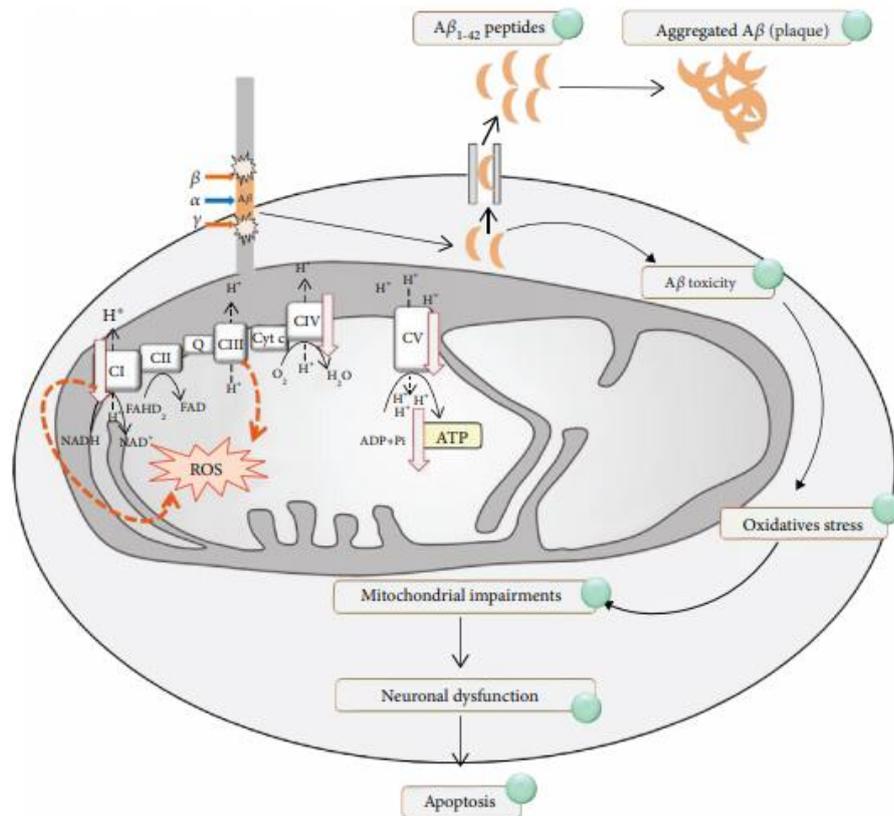
demonstram que a disfunção mitocondrial desempenha um importante papel na neurodegeneração que ocorre na DA. Efetivamente, estudos *post-mortem* e estudos com modelos animais da DA evidenciam, de forma consistente, uma diminuição da atividade da citocromo c oxidase na região do hipocampo e do neocórtex (Figura 2) (26,27). Uma diminuição da atividade do complexo I mitocondrial tem, também, sido observada em vários estudos (Figura 2) (28).

A inibição da cadeia respiratória mitocondrial resulta na diminuição da produção de ATP (Figura 2), o que é crítico para a função neuronal, pois os neurónios são células com baixa capacidade glicolítica, dependendo quase exclusivamente da mitocôndria para a obtenção da energia necessária para a realização de diversos processos cruciais, incluindo a neurotransmissão e plasticidade sináptica. A disfunção mitocondrial, também, resulta num aumento da produção de ROS pela cadeia respiratória mitocondrial (Figura 2) e, conseqüentemente, em stresse oxidativo, e numa perda da homeostasia do cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) intracelular, com conseqüências catastróficas para os neurónios, tal como será discutido em pormenor nos sub-capítulos seguintes (26,29).

A APP e os peptídeos  $\text{A}\beta$ , assim como a proteína tau hiperfosforilada têm sido relacionados com a disfunção mitocondrial observada nos doentes de Alzheimer (26).

No cérebro de doentes de Alzheimer tem-se verificado que a APP forma complexos estáveis com a translocase da membrana externa mitocondrial 40 (TOM40) e com a translocase da membrana interna mitocondrial 23 (TIM23), inibindo o importe de subunidades do complexo IV codificadas pelo DNA nuclear, o que resulta numa diminuição da atividade deste complexo mitocondrial e num aumento da produção de ROS (30).

Também uma acumulação de peptídeos  $\text{A}\beta$  na mitocôndria tem sido observada no cérebro de doentes de Alzheimer e em modelos animais da doença. No entanto, os mecanismos envolvidos na acumulação mitocondrial de  $\text{A}\beta$  não se encontram ainda completamente esclarecidos. Embora não se encontre ainda experimentalmente comprovado, a APP acumulada nos canais de translocação poderá eventualmente sofrer clivagem e originar a produção de  $\text{A}\beta$  na mitocôndria. Além do mais, existem fortes evidências de que os peptídeos  $\text{A}\beta$  poderão sofrer importe para a mitocôndria, nomeadamente, através da interação com os canais de importe TOM (31). Uma vez na mitocôndria, os peptídeos  $\text{A}\beta$  inibem os complexos I e IV da cadeia respiratória mitocondrial e aumentam a produção mitocondrial de ROS, comprometendo a função mitocondrial (32).



**Figura 2** – A disfunção mitocondrial na Doença de Alzheimer. Na DA ocorre uma diminuição da atividade dos complexos I e IV da cadeia respiratória mitocondrial, a qual resulta numa diminuição da síntese de ATP e num aumento da produção de ROS, o que conduz, ultimamente, a disfunção e morte neuronal. A APP e os peptídeos Aβ têm sido associados à disfunção mitocondrial (Retirado de (33)).

No que diz respeito à tau hiperfosforilada, esta inibe o complexo I da cadeia respiratória da mitocôndria e reduz a atividade de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), induzindo, assim, disfunção mitocondrial e aumento de ROS (26).

### 1.4.3. Stresse Oxidativo

Em condições fisiológicas, as ROS, particularmente o radical anião superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e o peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ), e as RNS, nomeadamente o óxido nítrico ( $\cdot NO$ ), são mantidas numa baixa concentração na célula e participam na regulação de diversos processos fisiológicos, tais como regulação da sobrevivência e morte celular, proliferação celular, respostas do sistema imunitário, plasticidade sináptica, entre outros. Mas quando em excesso, estas espécies reativas tornam-se nefastas para a célula, induzindo stresse oxidativo, uma condição que envolve modificações estruturais e, conseqüentemente, funcionais de diversas biomoléculas, tais como lípidos, proteínas e ácidos nucleicos, e uma desregulação de vias de sinalização redox (34).

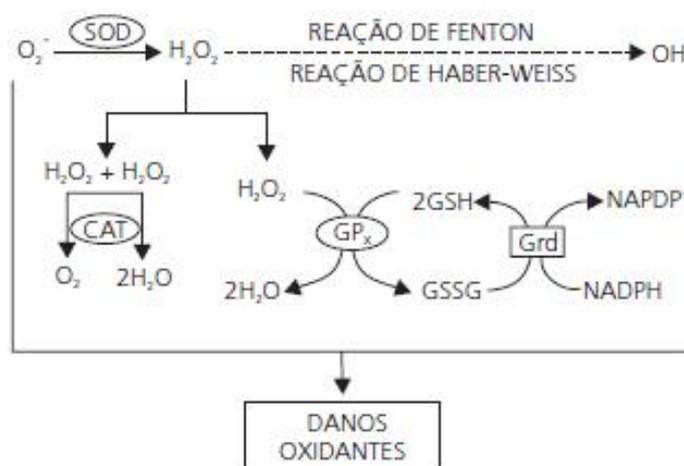
Os neurónios são células particularmente vulneráveis ao stresse oxidativo, pois têm, comparativamente a outras células do SNC, uma maior taxa metabólica, apresentam na sua constituição um elevado número de ácidos gordos polinsaturados (PUFAs), os quais são particularmente suscetíveis à peroxidação lipídica, e contêm uma menor concentração de glutatião (GSH), um antioxidante fundamental para a eliminação de espécies reativas (29).

O stresse oxidativo é considerado um mecanismo extremamente relevante na neurodegenerescência associada à DA (35). Neste contexto, vários estudos têm identificado a presença de diversos marcadores de stresse oxidativo no cérebro de doentes de Alzheimer e em modelos animais da doença, sendo de referir: uma diminuição dos níveis de PUFAS e um aumento dos seus produtos de oxidação, o aldeído malónico (MDA) e o 4-hidroxinonal (4-HNE) (29,36); um aumento significativo de grupos carbonilo em proteínas (29,37); um aumento de conteúdo de 3-nitrotirosina, um marcador da formação de peroxinitrito (ONOO-), uma RNS extremamente reativa (29,37); níveis elevados de 8-hidroxi-2-desoxiguanosina, um marcador de dano oxidativo do DNA, particularmente ao nível do DNA mitocondrial (29,38); modificações oxidativas de RNA (29).

A disfunção mitocondrial, níveis elevados de metais, os peptídeos A $\beta$ , a proteína tau hiperfosforilada e a neuroinflamação têm sido associados ao desenvolvimento de stresse oxidativo nesta doença neurodegenerativa (29). Além do mais, vários estudos indicam uma diminuição da atividade de várias enzimas antioxidantes, incluindo da SOD, da catalase e das glutatião peroxidases (GPX) e diminuição dos níveis de GSH na DA (29,39). Tal comprometimento do sistema de defesa antioxidante da célula resulta numa deficiente clearance das ROS/RNS, contribuindo também para o desenvolvimento de stresse oxidativo (29).

A disfunção mitocondrial é um dos principais mecanismos indutores de stresse oxidativo, sendo, igualmente, um dos seus principais alvos. Efetivamente, se a disfunção mitocondrial leva ao desenvolvimento de stresse oxidativo, também o stresse oxidativo induz/agrava a disfunção da mitocôndria, gerando-se, desta forma, um ciclo vicioso (40). A cadeia respiratória mitocondrial é a principal fonte de ROS na célula. Em condições fisiológicas, aproximadamente 1-2% do oxigénio molecular usado pela mitocôndria é reduzido a O $_2^{\cdot-}$ , o qual é dismutado por ação da SOD a H $_2$ O $_2$  (Figura 3). O H $_2$ O $_2$ , por sua vez, é reduzido a água por ação de enzimas como a catalase e as GPX (Figura 3). A inibição dos complexos I e IV observada na DA resultará num aumento da produção de O $_2^{\cdot-}$  e de H $_2$ O $_2$ , resultando no desenvolvimento de stresse oxidativo. O H $_2$ O $_2$ , através da reação com iões metálicos (reação

de Fenton), leva à produção de um radical livre extremamente reativo, o radical hidroxilo ( $\text{HO}\cdot$ ) (Figura 3), capaz de oxidar lípidos, proteínas e ácidos nucleicos, alterando a sua função celular (29,41-43).



**Figura 3** – Reações envolvendo o radical anião superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (Retirado de (43)).

O  $\text{O}_2^{\cdot-}$  poderá reagir com o  $\cdot\text{NO}$ , cuja produção se encontra igualmente aumentada na DA, formando-se  $\text{ONOO}^-$ , o qual apresenta uma elevada capacidade de oxidar e nitrar diversas biomoléculas, sendo extremamente nefasto para a célula. A mitocôndria constitui um alvo importante da ação do  $\text{ONOO}^-$ . O  $\text{ONOO}^-$  inibe de forma irreversível os complexos I e IV, bem como a ATP sintetase. Além do mais, esta RNS nitra e inativa a SOD dependente de manganésio (MnSOD), a qual se localiza na mitocôndria, o que resulta num aumento da concentração de  $\text{O}_2^{\cdot-}$ . A nitração e oxidação de lípidos pelo  $\text{ONOO}^-$  resulta na alteração da fluidez, permeabilidade e integridade das membranas. A oxidação do DNA mitocondrial, é outro efeito nefasto exercido pelo  $\text{ONOO}^-$  na mitocôndria. O  $\text{ONOO}^-$  pode também induzir a abertura do poro de permeabilidade transitória mitocondrial (PTP), ocorrendo a consequente libertação de fatores apoptogénicos e morte celular (29,41,42,44).

Tal como será discutido no sub-capítulo 1.4.5., na DA ocorre uma intensa ativação da microglia e astrócitos. Estas células ativadas produzem níveis elevados, não só de citocinas pró-inflamatórias, mas também de ROS e RNS, contribuindo significativamente para o desenvolvimento de stresse oxidativo (45).

Vários estudos indicam a presença de níveis elevados de metais, nomeadamente, ferro, zinco e cobre, em algumas regiões cerebrais, como o hipocampo, em doentes de Alzheimer. A interação destes metais com os peptídeos A $\beta$  origina a formação de complexos que promovem a produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, o qual, tal como referido, através da reação de Fenton leva à formação de HO•, induzindo, desta forma, stresse oxidativo (29). Os metais promovem também a agregação de peptídeos A $\beta$  e da proteína tau (34).

Quanto à proteína tau, o seu envolvimento na disfunção mitocondrial poderá contribuir para o desenvolvimento de stresse oxidativo (29).

O stresse oxidativo pode influenciar significativamente a produção, agregação e clearance dos peptídeos A $\beta$ . O stresse oxidativo reduz a atividade da  $\alpha$ -secretase e potencia a ativação da  $\beta$ - e  $\gamma$ -secretase, promovendo, assim, o processamento da APP através da via amiloidogénica. Como referido anteriormente, a via amiloidogénica promove a formação de novos peptídeos A $\beta$  a partir da APP, que por sua vez vão acumular e afetar negativamente a função neuronal, agravando a patologia da DA (29). O recetor da lipoproteína de baixa densidade relacionada com a proteína I (LRPI) é uma proteína multifuncional que realiza o efluxo de peptídeos A $\beta$  através da BHE para a corrente sanguínea. A oxidação de LRPI conduz à acumulação destes peptídeos neurotóxicos no cérebro. Neste contexto, é importante realçar que a presença de aductos entre o LRPI e 4-HNE é passível de ser observada no cérebro de doentes de Alzheimer (42).

#### **1.4.4. Excitotoxicidade**

A excitotoxicidade define-se pela morte celular, que resulta de ações tóxicas por aminoácidos excitatórios. Sendo o glutamato o principal neurotransmissor excitatório no sistema nervoso central (SNC), normalmente, o termo excitotoxicidade refere-se à toxicidade e morte neuronal provocada pela excessiva estimulação induzida por este neurotransmissor (46,47).

Em condições fisiológicas, o glutamato desempenha um papel fundamental na plasticidade sináptica e em mecanismos relacionados com a aprendizagem e memória, mas em condições patológicas está associado a dano neuronal (48,49).

O glutamato encontra-se armazenado em vesículas sinápticas no terminal pré-sináptico. Após um estímulo apropriado, ocorre despolarização da membrana e o glutamato é libertado na fenda sináptica. Uma vez na fenda sináptica, o glutamato liga-se a recetores

específicos. Os recetores do glutamato dividem-se em recetores ionotrópicos e metabotrópicos, sendo os primeiros subdivididos em três tipos: NMDA (N-metil-D-aspartato), AMPA ( $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metiloxazol-4-propionato) e o KA (Cainato) (46,48,49). Os recetores ionotrópicos são canais iónicos e são responsáveis pela maior parte da transmissão sináptica excitatória no SNC. Os recetores NMDA são permeáveis principalmente ao ião cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e ligeiramente permeáveis ao ião sódio ( $\text{Na}^{2+}$ ), enquanto que os recetores AMPA e KA são sobretudo permeáveis a  $\text{Na}^{2+}$  (49,50). De forma a evitar a excitotoxicidade induzida pelo glutamato, grande parte deste aminoácido excitatório é removida da fenda sináptica pelos astrócitos, por ação do transportador de aminoácidos excitatórios (EAAT). Nos astrócitos, o glutamato é rapidamente metabolizado em glutamina pela enzima glutamina sintetase (51).

O dano neuronal excitatório é mediado principalmente pelos recetores NMDA (49). Para um potencial de membrana de repouso, o recetor NMDA está bloqueado pelo ião magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), o qual é removido pela despolarização da membrana mediada pelo glutamato, permitindo o influxo de  $\text{Ca}^{2+}$ . Estímulos normais resultam numa transmissão eficiente nas sinapses excitatórias. No entanto, quando se verifica uma estimulação anormalmente intensa do recetor NMDA, por exemplo por níveis anormalmente elevados de glutamato na fenda sináptica, ocorre um influxo excessivo de  $\text{Ca}^{2+}$ , o qual vai despoletar uma cascata de eventos que envolve a ativação de uma série de enzimas (proteases, fosfolipases, endonucleases e a sintase do óxido nítrico (NOS)), disfunção mitocondrial e produção aumentada de ROS, culminando em degeneração e morte neuronal (47,49).

Neste contexto, é importante referir que vários estudos evidenciam que os peptídeos  $\text{A}\beta$  diminuem a expressão de proteínas pré-sinápticas como a sinaptotagmina e sinaptofisina envolvidas nos processos de fusão sináptica e diminuem a capacidade do transportador glutamatérgico vesicular internalizar o glutamato em vesículas (47). Adicionalmente, os peptídeos  $\text{A}\beta$  diminuem a ação do transportador EAAT, o que origina uma acumulação de glutamato na fenda sináptica e uma excessiva estimulação dos recetores NMDA, desencadeando excitotoxicidade (47,52).

Na DA, devido à disfunção mitocondrial e conseqüente comprometimento da síntese de ATP, pode ainda ocorrer um fenómeno de excitotoxicidade secundária ou indireta. Considerando que o ATP é fundamental para o bom funcionamento da bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase, responsável pela manutenção do potencial membranar, uma falha energética irá resultar numa despolarização neuronal parcial e conseqüente libertação do  $\text{Mg}^{2+}$  a partir do

recetor NMDA. Tal facto, resulta numa ativação persistente destes recetores e num aumento prolongado do influxo de  $\text{Ca}^{2+}$ , sem que haja um aumento da concentração extracelular de glutamato. Além do mais, o funcionamento das  $\text{Ca}^{2+}$ ATPases, devido à falta de ATP, encontra-se, também comprometido, o que associado ao excessivo influxo de  $\text{Ca}^{2+}$ , leva um grande aumento da concentração intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$ , ocorrendo desta forma um fenómeno de excitotoxicidade que culmina em disfunção e morte neuronal (47,49).

#### **1.4.5. Neuroinflamação**

A inflamação é um processo biológico que é desencadeado em resposta a qualquer tipo de lesão celular, seja ela de origem química, física ou biológica. A resposta inflamatória tem, normalmente, como objetivo eliminar o estímulo causador da lesão, facilitar a reparação e a adaptação dos tecidos, permitindo, assim, restaurar a homeostase. Quando a resposta inflamatória é adequada e autolimitada os processos de recuperação sobrepõem-se aos destrutivos. Mas se o processo inflamatório sofrer desregulação e a presença do estímulo nocivo for constante a resposta inflamatória pode tornar-se crónica, causando dano tecidual e doença (45).

A neuroinflamação, resposta inflamatória no SNC, é um mecanismo crucial na progressão e patogénese da DA, havendo estudos recentes que sugerem fortemente que a neuroinflamação ocorre mesmo antes da formação das placas senis e NFTs (53-55). A microglia e os astrócitos são os principais mediadores deste processo inflamatório (54).

As células da microglia são células fagocíticas e imunocompetentes do SNC. Além do mais, a ação da microglia passa também por proteger e remodelar as sinapses, sendo fulcral para a plasticidade dos circuitos neuronais (53).

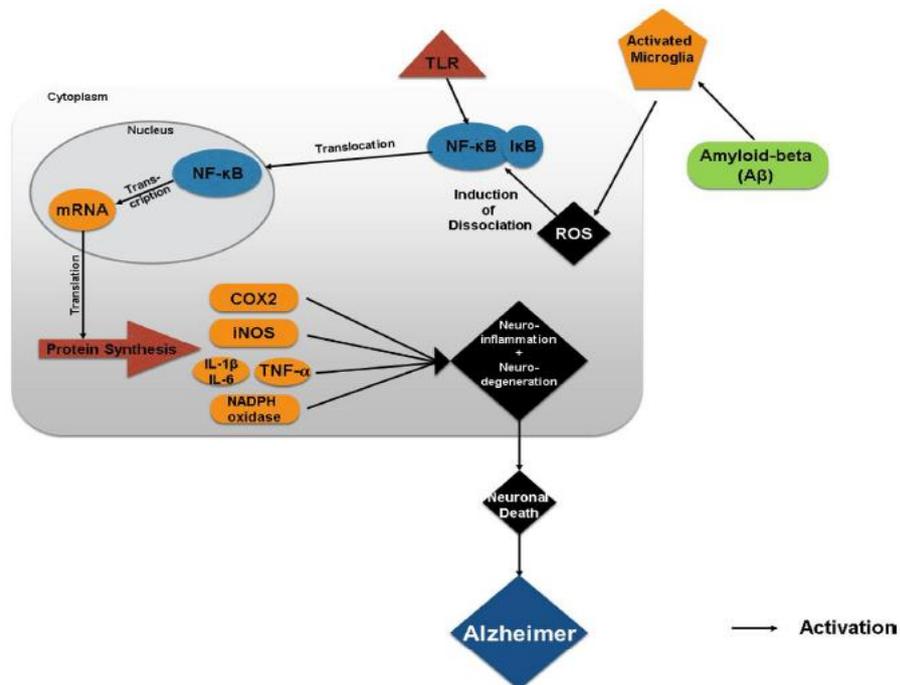
A microglia é ativada por diversos estímulos patológicos, os quais são percecionados por Recetores de Reconhecimento de Padrões (PRRs), os quais são capazes de reconhecer os Padrões Moleculares Associados a Danos ou Padrões Moleculares Associados a Patogénios (DAMPs/PAMPs) (53,56).

A ativação da microglia é um processo complexo pela existência de fenótipos diferentes. A ativação do fenótipo M1, caracteriza-se pela libertação de citocinas pró-inflamatórias, como o Fator de Necrose Tumoral ( $\text{TNF-}\alpha$ ) e interleucinas ( $\text{IL-1}\beta$ , 6, 12, 18) e pela produção de ROS e de  $\bullet\text{NO}$  (45,53,54,57). Enquanto que no fenótipo M2, ocorre a

produção e secreção de citocinas com propriedades anti-inflamatórias (IL-4, 10, 13) e de fatores neurotróficos (45,53).

Vários estudos demonstram que na DA ocorre uma ativação persistente da microglia no estado MI, o que resulta numa produção exagerada e descontrolada de mediadores inflamatórios. Neste contexto, importa referir que o alelo  $\epsilon 4$  da apoE promove efeitos pró-inflamatórios fortes, pois este alelo, comparativamente aos outros alelos, está associado a uma maior suscetibilidade para ativar o fenótipo MI (55).

Além do mais, os níveis elevados de  $A\beta$  têm sido, também, relacionados com esta ativação desregulada da microglia na DA. A microglia reconhece e liga-se a oligómeros e fibrilas de  $A\beta$  através de vários recetores, como o recetor Scavenger AI (SCARA-1), o CD36 e recetores Toll-Like (TLR) (53,54). Após a ligação a estes recetores, os peptídeos  $A\beta$  são fagocitados e degradados por ação de diversas enzimas (53). A interação dos peptídeos  $A\beta$  com estes recetores também conduz à fosforilação da proteína inibidora de NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B) e à sua degradação pelo proteossoma, deixando livre o NF- $\kappa$ B, o qual transloca para o núcleo, onde se liga a sequências específicas de DNA, promovendo a transcrição de genes que codificam citocinas e enzimas pró-inflamatórias (Figura 4) (58,59).



**Figura 4** – Mecanismo de ativação do NF- $\kappa$ B desencadeado pelos peptídeos  $A\beta$  (Retirado de (58)).

Inicialmente, a ativação da microglia exerce um papel protetor ao mediar a clearance dos peptídeos A $\beta$ . No entanto, devido aos elevados níveis de A $\beta$  que ocorrem na DA, a ativação da microglia torna-se prolongada. Ao fim de algum tempo, a microglia perde a sua capacidade de eliminar os peptídeos A $\beta$ , continuando, no entanto, a produzir citocinas pró-inflamatórias e ROS/RNS (53,54). Tal facto, origina acumulação de peptídeos A $\beta$  que, por sua vez, levam ao recrutamento de mais células microgliais, criando uma cascata contínua de inflamação (54).

A perda de capacidade de a microglia eliminar os peptídeos A $\beta$  parece ser um resultado da própria resposta inflamatória induzida por estes peptídeos. Efetivamente, existem fortes evidências de que certas citocinas inflamatórias, nomeadamente o TNF- $\alpha$ , e as ROS reduzem não só a expressão de recetores responsáveis pelo reconhecimento e internalização de peptídeos A $\beta$ , como também, das enzimas envolvidas na sua degradação (54,60,61).

Os astrócitos são as células gliais mais abundantes no SNC. Estas células desempenham importantes funções, estando envolvidas na neurogénese e sinaptogénese, fornecimento de energia aos neurónios, manutenção da homeostase dos níveis de cálcio e potássio e controlo da função e permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE) (45,54,61).

Tal como na microglia, os astrócitos têm a capacidade para reconhecer, ligar, fagocitar e degradar os peptídeos A $\beta$ . No entanto, existem fortes evidências de que uma ativação exacerbada dos astrócitos poderá ter um importante papel na neurodegeneração que ocorre na DA. A microglia ativada através da produção de citocinas inflamatórias, particularmente IL-1 $\beta$  e o TNF- $\alpha$ , ativa os astrócitos, pelo que a resposta inflamatória exacerbada induzida pela microglia se irá traduzir numa forte ativação dos astrócitos. Em resposta a esta ativação, o NF- $\kappa$ B é ativado, o que origina produção de níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, ROS e •NO, que conseqüentemente, contribuem para o aumento de neuroinflamação e dos danos neuronais (45,61).

Além do mais, estudos recentes, evidenciam que algumas citocinas, como TNF- $\alpha$  e o INF- $\gamma$ , e o A $\beta$ 42 promovem a produção de A $\beta$  pelos astrócitos ao aumentarem os níveis endógenos de BACE1 e estimularem o processamento da APP pela via amiloidogénica (45).

#### **1.4.6. Disfunção Vascular**

O conceito de Unidade Neurovascular (UNV) é um conceito relativamente recente que representa uma interação estrutural e funcional entre os vários tipos de células do SNC,

incluindo neurónios, glia (astrócitos, microglia e oligodendrócitos) e células vasculares (células endoteliais, perícitos e células musculares lisas vasculares) (11,62). A UNV é responsável pela regulação do acoplamento entre a atividade neuronal e o fluxo sanguíneo cerebral (FSC), processo designado por acoplamento neurovascular (63). A UNV desempenha, também, um importante papel na regulação da função da BHE, uma interface dinâmica constituída essencialmente por células endoteliais cerebrovasculares e que controla uma série de aspetos fundamentais para a homeostase cerebral, tais como a circulação de substâncias entre o plasma e o SNC, o suporte nutricional adequado para as necessidades metabólicas e a remoção de compostos indesejados provenientes do metabolismo cerebral (64).

Assim, quando ocorre uma disfunção na UNV, o FSC, o acoplamento neurovascular e a função da BHE ficam comprometidos, podendo contribuir para o desenvolvimento de várias patologias no SNC (64).

Atualmente, existem fortes evidências de que uma disfunção vascular desempenha um papel importante no desenvolvimento da DA. Vários fatores de risco vascular, incluindo hipertensão, diabetes, aterosclerose, obesidade, presença do alelo  $\epsilon 4$  da apoE, entre outros, poderão causar dano cerebrovascular. Neste contexto, vários estudos evidenciam uma associação entre fatores de risco vascular e um aumento da probabilidade de desenvolver DA. Este dano cerebrovascular poderá contribuir para a disfunção sináptica e neurodegeneração que ocorrem na DA (Figura 5) (16).

Uma hipoperfusão cerebral crónica pode conduzir a uma situação de hipóxia. A hipóxia induz aumento da permeabilidade da BHE, causa stresse metabólico e um aumento da produção de ROS, e induz a expressão de genes pró-inflamatórios, levando ao desenvolvimento de neuroinflamação e stresse oxidativo, o que tem um tremendo impacto negativo não só nos neurónios, mas também na BHE, promovendo e/ou agravando a sua disfunção (65). Além do mais, a hipóxia, ao aumentar a expressão do fator induzido por hipóxia  $1\alpha$  (HIF- $1\alpha$ ), conduz a um aumento da expressão da BACE-1 e, conseqüentemente, a um aumento da produção de peptídeos  $A\beta$  (66).

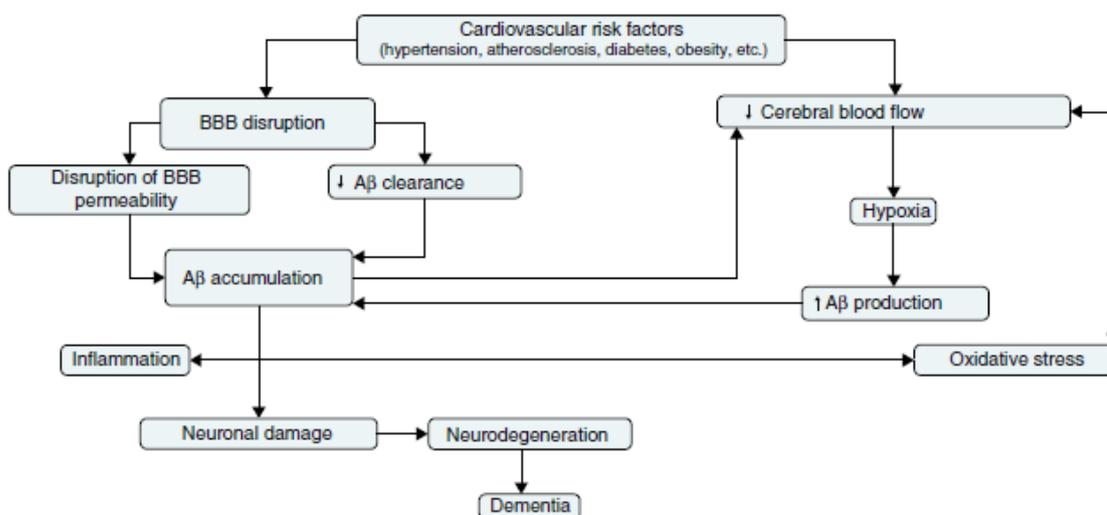
Apesar dos mecanismos relacionados com o acoplamento vascular serem ainda alvo de discussão, começa a ser perceptível o envolvimento do  $\bullet NO$ . Nos neurónios a ativação da via glutamatérgica, pela ligação de glutamato aos seus recetores, origina a produção de  $\bullet NO$ , que é um potente vasodilatador. O  $\bullet NO$  produzido difunde até aos vasos sanguíneos vizinhos induzindo vasodilatação e um efeito positivo no FSC (63). No entanto, em situações de stresse

oxidativo, verifica-se uma diminuição da biodisponibilidade do  $\bullet\text{NO}$  devido à sua interação com o  $\text{O}_2^{\bullet-}$  no endotélio, o que se traduz numa redução da sua ação vasodilatadora com repercussões ao nível do FSC e do acoplamento neurovascular (16,65).

Uma redução do FSC e um comprometimento do acoplamento neurovascular resultam numa redução do aporte de oxigénio, glucose e outros nutrientes fundamentais para o normal funcionamento neuronal (16,65).

Na DA a disfunção da BHE inclui: i) um aumento da permeabilidade da BHE; ii) diminuição da expressão do transportador da glucose I (GLUT-1), o que leva ao comprometimento do transporte de glucose para o parênquima cerebral; iii) disfunção de transportadores envolvidos na clearance do peptídeo  $\text{A}\beta$  através da BHE, o que compromete seriamente a eliminação destes peptídeo; iv) produção de mediadores inflamatórios e ROS, contribuindo para o desenvolvimento de inflamação e stresse oxidativo (16,65).

A deficiência ou ineficácia da clearance dos peptídeos  $\text{A}\beta$  e a continuidade da sua produção e acumulação originam transtornos como Angiopatia Amilóide Cerebral (CAA) (62). Assim, a CAA acaba por ser um fator agravante da DA, pois afeta estruturas cerebrovasculares e pode aumentar o risco de hemorragias, lesões isquémicas e encefalopatias. Estas lesões resultam em danos cerebrais graves e que podem contribuir para a neurodegeneração e disfunção cognitiva (11).



**Figura 5** – Relação entre a disfunção vascular e a neurodegeneração subjacente à DA (Retirado de (16)).

## **I.5. Terapêutica**

Apesar da intensiva investigação que tem sido realizada no âmbito da DA até à data as terapêuticas instituídas não apresentam um carácter curativo. Efetivamente, a terapêutica farmacológica atualmente utilizada visa atenuar a sintomatologia e, conseqüentemente, melhorar a qualidade de vida dos doentes e, também, dos seus cuidadores (67).

Para os sintomas relacionados com a disfunção cognitiva são utilizados inibidores da acetilcolinesterase (donepezilo, galantamina e rivastigmina) e antagonistas dos recetores NMDA (memantina).

Os doentes com DA apresentam uma reduzida função colinérgica. Os inibidores da acetilcolinesterase (AChE) ligam-se reversivelmente a esta enzima, diminuindo, desta forma, a degradação da acetilcolina, o que potencia o aumento da transmissão colinérgica entre neurónios e atenua os sintomas cognitivos e físicos.

Os antagonistas dos recetores NMDA, desempenham uma ação protetora para com os neurónios do córtex e do hipocampo cerebral, pois limitam a ligação do glutamato a este seu recetor, diminuindo, desta forma, a excessiva estimulação glutamatérgica, envolvida na neurodegeneração (67,68).

Por vezes, os doentes de Alzheimer desenvolvem sintomas depressivos, ansiedade ou irritabilidade. Nestes casos, recorre-se a inibidores seletivos da recaptção da serotonina (SSRIs) e a antipsicóticos (quetiapina, risperidona, olanzapina) (1).

As terapêuticas não farmacológicas, como a realização de exercício físico, programas de estimulação mental e terapias ocupacionais, são, também muito importantes nos doentes de Alzheimer. Estas atividades permitem manter os doentes ativos e ajudam a atenuar ou prevenir o declínio cognitivo (34,67).

A ineficácia da terapêutica atualmente utilizada na DA, torna urgente o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas capazes de prevenir ou limitar de forma eficaz e segura a degeneração e morte celular. Neste sentido, os polifenóis da dieta têm sido alvo de um profundo interesse por parte da comunidade científica, sendo, atualmente, considerados moléculas altamente promissoras para a prevenção e/ou tratamento de inúmeras doenças crónicas.

## 2. Os Polifenóis

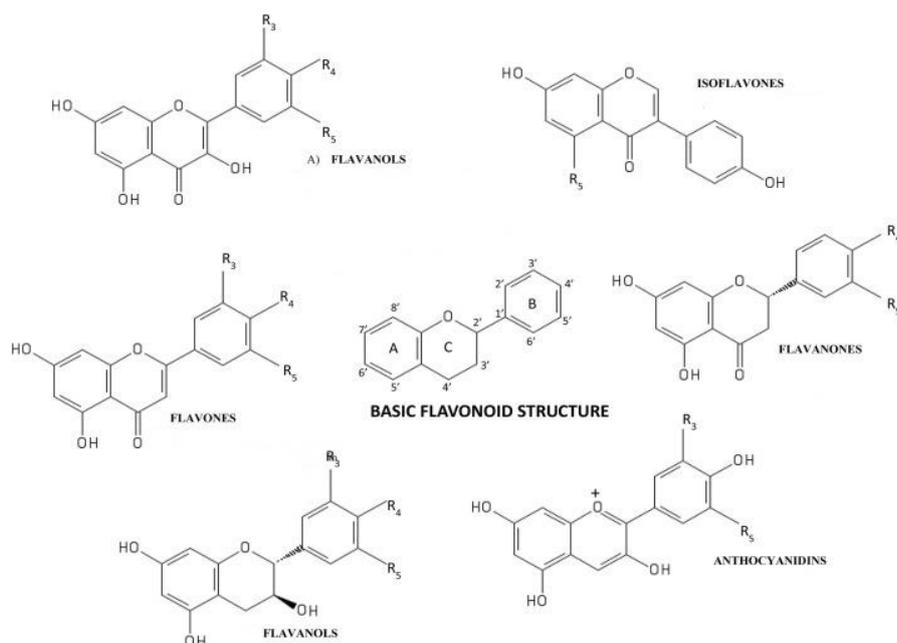
Os polifenóis são metabolitos secundários das plantas. Estes compostos protegem as plantas de agressões externas, nomeadamente dos danos oxidativos induzidos radiação ultravioleta e dos danos induzidos por bactérias, fungos e insetos. Para além da proteção, atuam também na reprodução e na pigmentação, ao atrair os polinizadores pelas cores chamativas (69).

Os polifenóis estão presentes em diversos alimentos, nomeadamente frutas, vegetais, azeite, vinho tinto, chá e cacau, entre outros, fazendo, assim, parte da dieta humana (69).

### 2.1. Estrutura Química

Quanto à sua estrutura química, os polifenóis, tal como o próprio nome indica, possuem um ou mais anéis aromáticos, aos quais se encontram ligados grupos hidroxilo (OH).

Os polifenóis são classificados em flavonóides e não flavonóides. O grupo dos flavonóides apresenta uma estrutura C6-C3-C6, constituída por dois anéis benzénico (A e B) ligados por um pirano (anel C) (Figura 6). Com base no grau de oxidação e no padrão de substituição do anel C, os flavonóides dividem-se em várias subclasses que incluem os flavonóis, flavonas, isoflavonas, 3-flavanóis, flavanonas e antocianidinas (Figura 6). O grupo dos não flavonóides inclui compostos fenólicos com estruturas variadas, tais como estilbenos, ácidos fenólicos e cumarinas (70,71).



**Figura 6** – Estrutura química das várias classes de flavonóides (Adaptado de (71)).

## 2.2. O Papel dos Polifenóis da Dieta na Doença de Alzheimer

Nos dias de hoje, é amplamente reconhecido que a nossa dieta pode influenciar de forma positiva ou negativa a nossa saúde (72). Neste sentido, existem fortes evidências que uma dieta rica em polifenóis, como é o caso da dieta mediterrânica, oferece proteção contra uma série de doenças crónicas (70).

O potencial efeito benéfico dos polifenóis tem sido atribuído, essencialmente, à capacidade que estes compostos apresentam em modular vias de sinalização celular e a transcrição de genes, através da sua interação específica com componentes celulares, como lípidos membranares e proteínas, incluindo enzimas, fatores de transcrição e recetores (72).

Estudos relativamente recentes com modelos *in vitro* e *in vivo* da DA demonstraram que alguns polifenóis, entre outros mecanismos, têm capacidade de inibir cascatas inflamatórias, nomeadamente a via do NF-kB, estimular defesas celulares endógenas contra o stresse oxidativo e a inflamação através da ativação da via de sinalização do *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2), inibir a produção de peptídeos A $\beta$  e a formação de oligómeros, promover a clearance destes peptídeos e reduzir a anormal hiperfosforilação e agregação da proteína tau. Tais estudos sugerem, fortemente, que estes compostos fenólicos podem ter um papel importante na prevenção e tratamento da DA (72,73).

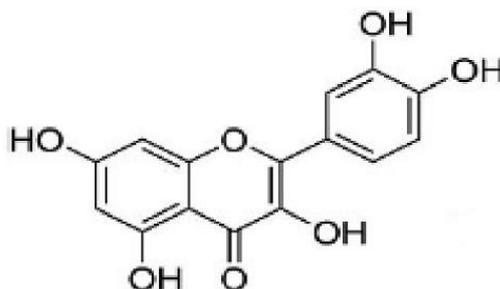
A maior preocupação em relação ao uso de polifenóis na prática clínica e, em particular em patologias do SNC, é a sua baixa biodisponibilidade devido à extensa metabolização e capacidade limitada em atravessar a BHE. No entanto, importa realçar que vários polifenóis intactos, bem como diversos metabolitos, os quais são muitas vezes mais ativos do que os compostos fenólicos iniciais, são passíveis de ser detetados no parênquima cerebral. Além do mais, nos últimos anos, diversos grupos de investigação têm concentrado esforços no sentido de desenvolver estratégias que permitam aumentar a absorção destes compostos fenólicos, diminuir o seu extenso metabolismo e tornar o seu transporte mais eficiente para o parênquima cerebral (74).

De seguida, são abordados, do ponto de vista mecanístico, alguns polifenóis que tem demonstrado uma relevante ação na DA.

### 2.2.1. Quercetina

A quercetina é um flavonol (Figura 7) presente em diversos alimentos da dieta humana, sendo os principais as frutas e vegetais como cebola, maçã, amendoins, soja, uvas, citrinos e

também nos chás (75,76). Vários estudos demonstram que a quercetina inibe a agregação de peptídeos A $\beta$ , inibe a AChE e atenua o stresse oxidativo, assim como, a neuroinflamação (77).



**Figura 7** – Estrutura química da Quercetina (Adaptado de (75)).

A formação e a agregação de peptídeos A $\beta$  é uma das principais marcas patológicas da DA, mas a quercetina interfere na formação de oligómeros de peptídeos A $\beta$  e destabiliza as fibrilas pré-formadas destes peptídeos. Assim, verifica-se um efeito positivo da quercetina ao reverter a neurotoxicidade induzida pela acumulação destes aglomerados proteicos (77). Esta ação da quercetina, está relacionada com a sua estrutura química. Efetivamente, todos os polifenóis que apresentam capacidade de inibir e destabilizar as fibrilas amiloidogénicas são constituídos por, pelo menos, dois anéis fenólicos e têm no mínimo três grupos OH nos anéis aromáticos (78). Estes grupos hidroxilo, aumentam a densidade de eletrões nos anéis aromáticos, o que aumenta a ligação destes polifenóis, como a quercetina, através de ligações de hidrogénio, aos aminoácidos aromáticos das estruturas em folha beta, inibindo, assim, a formação das fibrilas (76,77).

O NF-kB regula a produção de peptídeos A $\beta$  através da regulação da expressão da enzima BACE1 e promove a síntese de citocinas pró-inflamatórias, relacionadas com processos neuroinflamatórios. A quercetina apresenta capacidade de inibir o NF-kB e, assim, diminui a expressão da BACE1 e, conseqüentemente, reduz a formação e a agregação de peptídeos A $\beta$ . Ao mesmo tempo, suprime o processo neuroinflamatório pela diminuição da síntese de citocinas pró-inflamatórias (77).

A quercetina apresenta uma importante ação antioxidante e anti-inflamatória, devido à sua capacidade de ativar a via de sinalização do Nrf2. O Nrf2 é um fator de transcrição que, em condições basais, se encontra sequestrado no citoplasma pela proteína Kelch-Like ECH-Associated Protein 1 (Keap1). A oxidação ou a modificação covalente de resíduos de cisteína do Keap1, bem como, a fosforilação de resíduos de serina ou treonina no Nrf2 promovem a dissociação do complexo Keap1-Nrf2. O Nrf2 sofre translocação para o núcleo e dimeriza

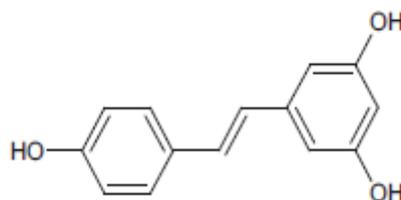
com outros fatores de transcrição, como a pequena Maf. O heterodímero liga-se ao elemento de resposta antioxidante (ARE), induzindo a transcrição de genes que codificam enzimas com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, como é o caso da hemoxigenase-1 (HO-1) e da glutamato-cisteína ligase, promovendo, desta forma, uma resposta contra os danos oxidativos e inflamatórios (77,79).

A quercetina demonstrou ainda uma potente ação anti-inflamatória, ao inibir a produção de  $\bullet\text{NO}$  e citocinas, como o  $\text{TNF-}\alpha$ , o  $\text{INF-}\gamma$ , Interleucinas e  $\text{COX-2}$ , em macrófagos ativos (77).

A quercetina exibe a capacidade de inibir a AChE, o que promove o aumento dos níveis de acetilcolina na fenda sináptica e, assim, o aumento da sua transmissão, melhorando os sintomas cognitivos da DA (75,77).

### 2.2.2. Resveratrol

O resveratrol é um polifenol que pertence à classe dos estilbenos (Figura 8) e que pode ser encontrado em abundância nas uvas e frutos vermelhos, assim como, no vinho tinto (80,81).



**Figura 8** – Estrutura química do resveratrol (Retirado de (82)).

Estudos com modelos *in vivo* e *in vitro* da DA e, recentemente, um estudo clínico de fase II indicam que o resveratrol, através de vários mecanismos, poderá desempenhar um papel importante na prevenção e, até mesmo, no tratamento da DA (80,83).

Um dos mecanismos envolvidos neste efeito protetor exercido pelo resveratrol parece ser a ativação da sirtuína I (SIRT1). A SIRT1 ativa a  $\alpha$ -secretase, promovendo, desta forma, a clivagem da APP pela via não amiloidogénica (73). Além do mais, a SIRT1 desacetila a proteína tau, o que promove a sua ubiquitinação e, conseqüentemente, a degradação pelo proteossoma (82,84). O resveratrol apresenta ainda capacidade de inibir a formação de fibrilas amiloidogénicas. Este polifenol também exerce uma ação protetora contra a neuroinflamação

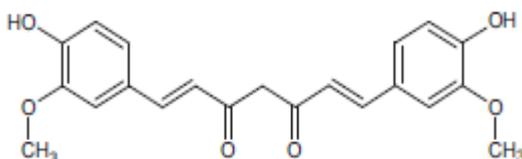
induzida pelos peptídeos A $\beta$  ao inibir a cascata de sinalização do NF-kB na microglia e astrócitos (80).

Num estudo com murganhos idosos, o resveratrol mostrou capacidade de restaurar o acoplamento neurovascular através do aumento da biodisponibilidade do •NO via inibição da NADPH oxidase e, conseqüentemente, diminuição da produção de ROS por esta enzima (80,85).

Embora existam evidências de que o resveratrol atravessa a BHE, a sua biodisponibilidade por via oral é muito baixa devido à sua rápida metabolização e eliminação. Tal facto, sugere que os efeitos protetores observados relativamente ao resveratrol possa, pelo menos em parte, ser mediados por alguns dos seus metabolitos, tais como o resveratrol-3-fosfato e o resveratrol-3-O-glucorónido (73,81).

### 2.2.3. Curcumina

A curcumina é um polifenol pertencente ao grupo dos não flavonóides (Figura 9). Encontra-se presente nos rizomas da planta *Curcuma longa*, sendo muito conhecida pela sua coloração amarela e ampla utilização na culinária. Este polifenol começou a ser alvo de interesse pela sua ação benéfica em várias patologias, sendo um alvo de estudo para a terapêutica de DA (82,86).



**Figura 9** – Estrutura química da curcumina (Retirado de (82)).

Vários estudos demonstram que a curcumina apresenta propriedades anti-amiloidogénicas. Efetivamente, a curcumina inibe a BACE1 e, conseqüentemente, diminui a formação de peptídeos A $\beta$ . Além do mais, a curcumina mostrou inibir a formação de oligómeros e fibrilas de A $\beta$  e promover a desagregação de fibrilas já existentes, reduzindo a sua concentração no cérebro (86).

Tal como referido anteriormente, os doentes de Alzheimer apresentam, em determinadas áreas cerebrais, níveis elevados de iões metálicos, os quais se ligam aos peptídeos A $\beta$ , promovendo a sua agregação. A complexação destes iões metálicos pela

curcumina é um dos mecanismos propostos para a inibição da formação dos agregados amilóides. (87).

Outra ação da curcumina passa pela inativação da GSK3 $\beta$ , envolvida na aberrante fosforilação da proteína Tau e a consequente formação de NFT. Ao ser inativada, verifica-se a redução na formação destas estruturas (87).

A curcumina reduz a ativação da microglia e dos astrócitos, inibe a via de sinalização do NF- $\kappa$ B, diminuindo, assim, a produção de citocinas inflamatórias, tais como a IL-6 e o TNF- $\alpha$  (86,88). A curcumina apresenta ainda capacidade de reduzir a ativação da microglia no fenótipo M1 da microglia e estimular o fenótipo M2 (89).

A estrutura da curcumina e dos seus derivados desempenha também um fator chave na sua ação na DA. Pelo facto de ter presente dois anéis aromáticos e a distância entre eles favorecer a interação da curcumina e dos seus derivados com a AChE. Ao interagirem ocorre a formação de um complexo entre eles, inativando a AChE. Nos estudos levados a cabo, quando a AChE se encontra inativa pela curcumina e seus derivados, há a evidência de uma melhoria ao nível da memória dos doentes (75).

## Considerações Finais

A Doença de Alzheimer é a doença neurodegenerativa mais comum e a principal causa de demência, sendo alvo de uma intensa investigação por parte da comunidade científica. No entanto, a etiologia da DA permanece enigmática e os fármacos atualmente disponíveis são claramente ineficazes, pois apenas melhoram a sintomatologia, não conduzindo à cura da doença. Assim, surge a necessidade de desenvolver novas estratégias terapêuticas que, de uma forma eficaz e segura, sejam capazes de prevenir e/ou curar a patologia.

Atualmente, existem fortes evidências de que os polifenóis da dieta poderão prevenir e limitar a morte neuronal que ocorre na DA. Tais evidências surgem do facto destes compostos fenólicos terem capacidade de modular vários mecanismos de neurodegeneração cruciais na DA, sendo de referir a prevenção da disfunção mitocondrial, inibição de cascatas inflamatórias, inibição da ativação exacerbada da microglia e astrócitos, estimulação de defesas celulares endógenas, melhoria do acoplamento neurovascular, inibição da produção e agregação de peptídeos A $\beta$  e redução da anormal hiperfosforilação e agregação da proteína tau.

No entanto, os mecanismos de ação dos polifenóis não se encontram ainda totalmente esclarecidos e, além do mais, a sua reduzida biodisponibilidade devido à extensa metabolização e capacidade limitada em atravessar a BHE, poderá constituir um importante obstáculo à sua utilização no âmbito das doenças neurodegenerativas. Assim, é necessário continuar a apostar na investigação destes compostos fenólicos, de modo a aprofundar o conhecimento sobre o seu metabolismo e mecanismos de atuação, perceber claramente o verdadeiro impacto que os polifenóis poderão ter na prevenção e progressão da DA, incluindo ao longo dos vários estadios da doença, bem como, desenvolver formulações que veiculem o polifenol diretamente para áreas cerebrais específicas.

## Referências Bibliográficas

1. APOSTOLOVA, L. G. - **Alzheimer Disease**. Continuum: Lifelong Learning in Neurology. 22:2 (2016) 419-34.
2. GOVINDPANI, K., MACNAMARA, L. G., SMITH, N. R., VINNAKOTA, C., WALDVOGEL, H. J., FAUL, R.L., et al. - **Vascular Dysfunction in Alzheimer's Disease: A Prelude to the Pathological Process or a Consequence of It?** Journal of Clinical Medicine. 8:5 (2019) 651-708.
3. SANTANA, I., FARINHA, F., FREITAS, S., RODRIGUES, V., CARVALHO, A. - **Epidemiologia da Demência e da Doença de Alzheimer em Portugal: Estimativas da Prevalência e dos Encargos Financeiros com a Medicação**. Acta Médica Portuguesa. 28.2 (2015) 182-188.
4. ASSOCIAÇÃO ALZHEIMER PORTUGAL - **A Doença de Alzheimer**. [Acedido a 7 de abril de 2020]. Disponível em: [http://alzheimerportugal.org/alzheimerportugal.org/public/Text.php?section\\_context\\_id=0&section\\_parent\\_id=9&section\\_id=30&text\\_id=14&title=a-doenca-de-alzheimer](http://alzheimerportugal.org/alzheimerportugal.org/public/Text.php?section_context_id=0&section_parent_id=9&section_id=30&text_id=14&title=a-doenca-de-alzheimer)
5. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Dementia**. [Acedido a 31 de março de 2020]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
6. MASTERS, C. L., BATEMAN, R., BLENNOW, K., ROWE, C.C., SPERLING, R.A., CUMMINGS, J.L. - **Alzheimer's disease**. Nature Reviews Disease Primers. 1:1 (2015) 1-18.
7. ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT - **Health at a Glance 2019: OECD Indicators**. [Acedido a 30 de agosto de 2020]. Disponível em: [https://www.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/health-at-a-glance-2019\\_4dd50c09-en](https://www.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/health-at-a-glance-2019_4dd50c09-en)
8. AHN, K.-C., LEARMAN, C. R., BAKER, G. B., WEAVER, C. L., CHUNG, P.-S., KIM, H. G., et al. - **Regulation of Diabetes: A Therapeutic Strategy for Alzheimer's Disease?** Journal of Korean Medical Science. 34:46 (2019) 297-314.
9. REITZ, C., MAYEUX, R. - **Alzheimer disease: Epidemiology, Diagnostic Criteria, Risk Factors and Biomarkers**. Biochemical Pharmacology. 88:4 (2014) 640-651.
10. SCHIMMOLLER, F., HIGAKI, J. N., CORDELL, B. - **Amyloid Forming Proteases: Therapeutic Targets for Alzheimers Disease**. Current Pharmaceutical Design. 8:28 (2002) 2521-2531.

11. EDWARDS III, G.A., GAMEZ, N., ESCOBEDO, Jr. G., CALDERON, O., MORENO-GONZALEZ, I.- **Modifiable Risk Factors for Alzheimer's Disease.** *Frontiers in Aging Neuroscience.* 11:146 (2019) 1-18.
12. MEMORY AND AGING CENTER. **Familial Alzheimer's Disease.** [Acedido a 1 de maio de 2020]. Disponível em: <https://memory.ucsf.edu/genetics/familial-alzheimer-disease>
13. KRSTIC, D., KNUESSEL, I. - **Deciphering the mechanism underlying late-onset Alzheimer disease.** *Nature Reviews: Neurology.* 9:1 (2013) 25-34.
14. ALVES, L., CORREIA, A. S. A., MIGUEL R., ALEGRIA P., BUGALHO P. - **Alzheimer's Disease: A Clinical Practice-Oriented Review.** *Frontiers in Neurology,* 3:63 (2012).
15. JAHN, H. - **Memory loss in Alzheimer's disease.** *Dialogues in Clinical Neuroscience.* 15:4 (2013) 445-454.
16. RIUS-PÉREZ, S., TORMOS, A. M., PÉREZ, S., TALÉNS-VISCONTI, R. - **Vascular pathology: Cause or effect in Alzheimer disease?** *Neurología (English Edition).* 33:2 (2018) 112-120.
17. MÜLLER, U. C., DELLER, T., KORTE, M. - **Not just amyloid: physiological functions of the amyloid precursor protein family.** *Nature Reviews Neuroscience.* 18:5 (2017) 281-298.
18. CHUN, Y. S., CHO, Y. Y., KWON, O. H., ZHAO, D., YANG, H.O. - **Substrate-Specific Activation of  $\alpha$ -Secretase by 7-Deoxy-Trans-Dihydronarciclasine Increases Non-Amyloidogenic Processing of  $\beta$ -Amyloid Protein Precursor.** *Molecules.* 25:3 (2020) 1-16.
19. HAMPEL, H., VASSAR, R., DE STROOPER, B., HARDY, J., WILLEM, M., SINGH N., et al. - **The  $\beta$ -Secretase BACE1 in Alzheimer's Disease.** *Biological Psychiatry.* (2020) 1-12.
20. GROCHOWSKA, K. M., YUANXIANG, P., BÄR, J., RAMAN, R., BRUGAL, G., SAHU, G., et al. - **Posttranslational modification impact on the mechanism by which amyloid- $\beta$  induces synaptic dysfunction.** *EMBO Reports.* 18:6 (2017) 962-981.
21. SERRANO-POZO, A., FROSH, M. P., MASLIAH, E., HYMAN, B. T. - **Neuropathological Alterations in Alzheimer Disease.** *Cold Spring Harbor Perspectives Medicine.* 1:1 (2011) 1-23.

22. LI, Y., XU, P., SHAN, W., JI, X., CHI, T., LIU, P., et al. - **Interaction between hyperphosphorylated tau and pyroptosis in forskolin and streptozotocin induced AD models.** *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 121 (2020) 1-11.
23. BITTAR, A., BHATT, N., KAYED, R. - **Advances and considerations in AD tau-targeted immunotherapy.** *Neurobiology of Disease.* 134 (2020) 1-11.
24. VOSS, K., KOREN, J., DICKEY, C. A. - **The Earliest Tau Dysfunction in Alzheimer's Disease?** *The American Journal of Pathology.* 179:5 (2011) 2148-2151.
25. DOLAN, P., JOHNSON, G. - **The role of tau kinases in Alzheimer's disease.** *Current Opinion in Drug Discovery & Development.* 13:5 (2010) 595-603.
26. CAI, Q., TAMMINENI, P. - **Mitochondrial Aspects of Synaptic Dysfunction in Alzheimer's Disease.** *Journal of Alzheimer's Disease: JAD.* 57:4 (2017) 1087-1103.
27. REDDY, P. H., YIN, X., MANCZAK, M., KUMAR, S., PRADEEPKIRAN, J. A., VIJAYAN, M., et al. - **Mutant APP and amyloid beta-induced defective autophagy, mitophagy, mitochondrial structural and functional changes and synaptic damage in hippocampal neurons from Alzheimer's disease.** *Human Molecular Genetics.* 27:14 (2018) 2502-2516.
28. HOLPER, L., BEN-SHACHAR, D., MANN, J. - **Multivariate meta-analyses of mitochondrial complex I and IV in major depressive disorder, bipolar disorder, schizophrenia, Alzheimer disease, and Parkinson disease.** *Neuropsychopharmacology.* 44:5 (2019) 837-849.
29. CHEN, Z., ZHONG, C. - **Oxidative stress in Alzheimer's disease.** *Neuroscience Bulletin.* 30:2 (2014) 271-281.
30. DEVI, L., PRABHU, B. M., GALATI, D. F., AVADHANI, N. G., ANANDATHEERTHAVARADA, H. K. - **Accumulation of amyloid precursor protein in the mitochondrial import channels of human Alzheimer's disease brain is associated with mitochondrial dysfunction.** *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience.* 26:35 (2006) 9057-9068.
31. PINHO, C. M., TEIXEIRA, P. F., GLASER, E. - **Mitochondrial import and degradation of amyloid- $\beta$  peptide.** *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics.* 1837:7 (2014) 1069-1074.
32. BOBBA, A., AMADORO, G., VALENTI, D., CORSETTI, V., LASSANDRO, R., ATLANTE, A. - **Mitochondrial respiratory chain Complexes I and IV are impaired by  $\beta$ -**

- amyloid via direct interaction and through Complex I-dependent ROS production, respectively.** *Mitochondrion*. 13:4 (2013) 298-311.
33. LEJRI, I., AGAPOUDA, A., GRIMM, A., ECKERT, A. - **Mitochondria- and Oxidative Stress-Targeting Substances in Cognitive Decline-Related Disorders: From Molecular Mechanisms to Clinical Evidence.** *Oxidative medicine and Cellular Longevity*. 2019 (2019) 1-26.
34. TÖNNIES, E., TRUSHINA, E. - **Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease.** *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*. 57:4 (2017) 1105-1121.
35. AHMAD, W., IJAZ, B., SHABBIRI, K., AHMED, F., REHMAN, S. - **Oxidative toxicity in diabetes and Alzheimer's disease: mechanisms behind ROS/ RNS generation.** *Journal of Biomedical Science*. 24:76 (2017) 1-10.
36. PERLUIGI, M., COCCIA, R., BUTTERFIELD, D. A. - **4-Hydroxy-2-Nonenal, a Reactive Product of Lipid Peroxidation, and Neurodegenerative Diseases: A Toxic Combination Illuminated by Redox Proteomics Studies.** *Antioxidants & Redox Signaling*. 17:11 (2012) 1590-1609.
37. BUTTERFIELD, D. A., REED, T. T., PERLUIGI, M., DE MARCO, C., COCCIA, R., KELLER, J. N., et al. - **Elevated Levels of 3-Nitrotyrosine in Brain From Subjects with Amnesic Mild Cognitive Impairment: Implications for the Role of Nitration in the Progression of Alzheimer's Disease.** *Brain Research*. 1148 (2007) 243-248.
38. ZHANG, C., NESTOROVA, G., RISSMAN, R. A., FENG, J. - **Detection and Quantification of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine in Alzheimer's Transgenic Mouse Urine using Capillary Electrophoresis.** *Electrophoresis*. 34:14 (2013) 2268-2274.
39. GHOSH, D., LEVAULT, K. R., BREWER, G. J. - **Relative importance of redox buffers GSH and NAD(P)H in age-related neurodegeneration and Alzheimer disease-like mouse neurons.** *Aging Cell*. 13:4 (2014) 631-640.
40. WANG, X., WANG, W., LI, L., PERRY, G., LEE, H., ZHU, X. - **Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Alzheimer's Disease.** *Biochimica et Biophysica Acta*. 1842:8 (2014) 1240-7.
41. FILOMENI, G., DE ZIO, D., CECCONI, F. - **Oxidative stress and autophagy: the clash between damage and metabolic needs.** *Cell Death and Differentiation*. 22:3 (2015) 377-388.

42. CHEIGNON, C., TOMAS, M., BONNEFONT-ROUSSELOT, D., FALLER, P., HUREAU, C., COLLIN, F. - **Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease.** *Redox Biology.* 14 (2018) 450-464.
43. BARBOSA K. B. F., COSTA, N. M. B., ALFENAS, R. C. G., DE PAULA, S. O., MINIM, V. P. R., BRESSAN, J. - **Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios.** *Revista de Nutrição.* 23:4 (2010) 629-643.
44. RADI, R. - **Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 115:23 (2018) 5839-5848.
45. SOCHOCKA, M., DINIZ, B. S., LESZEK, J. - **Inflammatory Response in the CNS: Friend or Foe?** *Molecular Neurobiology.* 54:10 (2017) 8071-8089.
46. DONG, X., WANG, Y., QIN, Z. - **Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases.** *Acta Pharmacologica Sinica.* 30:4 (2009) 379-387.
47. WANG, R., REDDY, P. H. - **Role of glutamate and NMDA receptors in Alzheimer's disease.** *Journal of Alzheimer's Disease: JAD.* 57:4 (2017) 1041-1048.
48. CHEN, S., GOUAUX, E. - **Structure and mechanism of AMPA receptor – auxiliary protein complexes.** *Current Opinion in Structural Biology.* 54 (2019) 104-111.
49. BELOV KIRDAJOVA, D., KRISKA, J., TURECKOVA, J., ANDEROVA, M. - **Ischemia-Triggered Glutamate Excitotoxicity From the Perspective of Glial Cells.** *Frontiers in Cellular Neuroscience.* 14:51 (2020) 1-27.
50. HERNÁNDEZ, D. E., SALVADORES, N. A., MOYA-ALVARADO, G., CATALÁN, R. J., BRONFMAN, F. C., COURT, F. A. - **Axonal degeneration induced by glutamate excitotoxicity is mediated by necroptosis.** *Journal of Cell Science.* 131:22 (2018) 1-16.
51. UWECHUE, N. M., MARX, M-C., CHEVY, Q., BILLUPS, B. - **Activation of glutamate transport evokes rapid glutamine release from perisynaptic astrocytes.** *The Journal of Physiology.* 590:10 (2012) 2317-2331.
52. WILLARD, S. S., KOOCHKPOUR, S. - **Glutamate, Glutamate Receptors, and Downstream Signaling Pathways.** *International Journal of Biological Sciences.* 9:9 (2013) 948-959.

53. HENEKA, M. T., CARSON, M. J., EL KHUORY, J., LANDRETH, G. E., BROSSERON, F., FEINSTEIN, D. L., et al. - **Neuroinflammation in Alzheimer's Disease**. *The Lancet. Neurology*. 14:4 (2015) 388-405.
54. KLOSKE, C. M., WILCOCK, D. M. - **The Important Interface Between Apolipoprotein E and Neuroinflammation in Alzheimer's Disease**. *Frontiers in Immunology*. 11:754 (2020) 1-12.
55. CONTRERAS, J., ASLANYAN, V., SWEENEY, M., SANDERS, L., SAGARE, A., ZLOKOVIC, B., et al. - **Functional connectivity among brain regions affected in Alzheimer's disease is associated with CSF TNF- $\alpha$  in APOE 4 carriers**. *neurobiology of Aging*. 86 (2020) 112-122.
56. NEWTON, K., DIXIT, V. M. - **Signaling in innate immunity and inflammation**. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 4:3 (2012) 1-20.
57. NAZEM, A., SANKOWSKI, R., BACHER, M., AL-ABED, Y. - **Rodent models of neuroinflammation for Alzheimer's disease**. *Journal of Neuroinflammation*. 12:74 (2015) 1-15.
58. SEO, E.-J., FISHER, N., EFFERTH, T. - **Phytochemicals as inhibitors of NF- $\kappa$ B for treatment of Alzheimer's disease**. *Pharmacological Research*. 129 (2018) 262-273.
59. SRINIVASAN, M., LAHIRI, D. K. - **Significance of NF- $\kappa$ B as a pivotal therapeutic target in the neurodegenerative pathologies of Alzheimer's disease and multiple sclerosis**. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 19:4 (2015) 471-87.
60. SIMON, E., OBST, J., GOMEZ-NICOLA, D. - **The Evolving Dialogue of Microglia and Neurons in Alzheimer's Disease: Microglia as Necessary Transducers of Pathology**. *Neuroscience*. 405 (2019) 24-34.
61. FAKHOURY, M. - **Microglia and Astrocytes in Alzheimer's Disease: Implications for Therapy**. *Current Neuropharmacology*. 16:5 (2018) 508-518.
62. NELSON, A. R., SWEENEY, M. D., SAGARE, A. P., ZLOKOVIC, B. V. - **Neurovascular dysfunction and neurodegeneration in dementia and Alzheimer's disease**. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 1862:5 (2016) 887-900.
63. LOURENÇO, C. F., SANTOS, R. M., BARBOSA, R. M., CADENAS, E., RADI, R., LARANJINHA, J. - **Neurovascular coupling in hippocampus is mediated via diffusion by neuronal-derived nitric oxide**. *Free Radical Biology and Medicine*. 73 (2014) 421-429.

64. ZENARO, E., PIACENTINO, G., CONSTANTIN, G. - **The blood-brain barrier in Alzheimer's disease.** *Neurobiology of Disease.* 107 (2017) 41-56.
65. DI MARCO, L. Y., VENNERI, A., FARKAS, E., EVANS, P. C., MARZO, A., FRANGI, A. F. - **Vascular dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease — A review of endothelium-mediated mechanisms and ensuing vicious circles.** *Neurobiology of Disease.* 82 (2015) 593-606.
66. LONATI, E., BRAMBILLA, A., MILANI, C., MASSERENI, M., PALESTINI, P., BULBSRELLI, A. - **Pin1, a new player in the fate of HIF-1 $\alpha$  degradation: an hypothetical mechanism inside vascular damage as Alzheimer's disease risk factor.** *Frontiers in Cellular Neuroscience.* 8:1 (2014) 1-11.
67. EPPERLY, T. - **Alzheimer Disease: Pharmacologic and Nonpharmacologic Therapies for Cognitive and Functional Symptoms.** *Alzheimer Disease.* 95:12 (2017) 771-778.
68. BRIGGS, R., KENNELLY, S. P., O'NEILL, D. - **Drug treatments in Alzheimer's disease.** *Clinical Medicine.* 16:3 (2016) 247-253.
69. ROMAN, G., JACKSON, R. E., GADHIA, R., ROMÁN, A. N., REIS, J. - **Mediterranean diet: The role of long-chain  $\omega$ -3 fatty acids in fish; polyphenols in fruits, vegetables, cereals, coffee, tea, cacao and wine; probiotics and vitamins in prevention of stroke, age-related cognitive decline, and Alzheimer disease.** *Revue Neurologique.* 175 (2019) 1-18.
70. FIGUEIRA, I., MENEZES, R., MACEDO, D., COSTA, I., NUNES DOS SANTOS, C. - **Polyphenols Beyond Barriers: A Glimpse into the Brain.** *Current Neuropharmacology.* 15:4 (2017) 562-594.
71. SANTHAKUMAR, A. B., BaATTINO, M., ALVAREZ-SUAREZ, J. M. - **Dietary polyphenols: Structures, bioavailability and protective effects against atherosclerosis.** *Food and Chemical Toxicology.* 113 (2018) 49-65.
72. ABATE, G., MARZIANO, M., RUNGRATANAWANICH, W., MEMO, M., UBERTI, D. - **Nutrition and AGE-ing: Focusing on Alzheimer's Disease.** *Oxidative Medicine Cellular Longevity.* 2017 (2017) 1-10.
73. PASINTTI, G., WANG, J., HO, L., ZHAO, W., DUBNER, L. - **Roles of resveratrol and other grape-derived polyphenols in Alzheimer's disease prevention and treatment.** *Biochimica et Biophysica Acta.* 1852 (2015) 1202-1208.

74. PERRONE, L., SAMPAOLO, S., MELONE, M. A. B. - **Bioactive Phenolic Compounds in the Modulation of Central and Peripheral Nervous System Cancers: Facts and Misdeeds.** *Cancers*. 12:2:454 (2020) 1-17.
75. JABIR, N. R., KHAN, F. R., TABREZ, S. - **Cholinesterase targeting by polyphenols: A therapeutic approach for the treatment of Alzheimer's disease.** *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 24:9 (2018) 753-762.
76. VAISERMAN, A., KOLIADA, A., LUSHCHAK, O. - **Neuroinflammation in pathogenesis of Alzheimer's disease: Phytochemicals as potential therapeutics.** *Mechanisms of Ageing and Development*. 189 (2020) 1-16.
77. KHAN, H., ULLAH, H., ASCHNER, M., CHEANG, W. S., AKKOL, E. K. - **Neuroprotective Effects of Quercetin in Alzheimer's Disease.** *Biomolecules*. 10:1:59 (2020) 1-20.
78. PORAT, Y., ABRAMOWITZ, A., GAZIT, E. - **Inhibition of Amyloid Fibril Formation by Polyphenols: Structural Similarity and Aromatic Interactions as a Common Inhibition Mechanism.** *Chemical Biology & Drug Design*. 67:1 (2006) 27-37.
79. COSTA, L. G., GARRICK, J. M., ROQUÈ, P. J., PELLACANI, C. - **Mechanisms of Neuroprotection by Quercetin: Counteracting Oxidative Stress and More.** *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016 (2016) 1-10.
80. SAWDA, C., MOUSSA, C., TURNER, R. S. - **Resveratrol for Alzheimer's disease.** *Annals of the New York Academy Sciences*. 1403:1 (2017) 142-149.
81. JIA, Y., WANG, N., LIU, X. - **Resveratrol and Amyloid-Beta: Mechanistic Insights.** *Nutrients*. 9:10 (2017) 1122-1135.
82. VILLAFLORES, O. B., CHEN, Y.-J., CHEN, C.-P., YEH, J.-M., WU, T.-Y. - **Curcuminoids and resveratrol as anti-Alzheimer agents.** *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 51:4 (2012) 515-525.
83. MA, T., TAN, M.-S., YU, J.-T., TAN, L. - **Resveratrol as a Therapeutic Agent for Alzheimer's Disease.** *BioMed Research International*. 2014 (2014) 1-13.
84. MIN, S.-W., CHO, S.-H., ZHOU, Y., SCHROEDER, S., HAROUTUNIAN, V., SEELEY, W. W., et al. - **Acetylation of Tau Inhibits Its Degradation and Contributes to Tauopathy.** *Neuron*. 67:6 (2010) 953-966.
85. TOTH, P., TARANTINI, S., TUCSEK, Z., ASHPOLE, N. M., SOSNOWSKA, D., GAUTAM, T., et al. - **Resveratrol treatment rescues neurovascular coupling in aged mice:**

- role of improved cerebrovascular endothelial function and downregulation of NADPH oxidase.** American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 306:3 (2013) 299-308.
86. REDDY, P. H., MANCZAK, M., YIN, X., GRADY, M. C., MITCHELL, A., TONK, S., et al. - **Protective Effects of Indian Spice Curcumin Against Amyloid Beta in Alzheimer's Disease.** Journal of Alzheimer's Disease:JAD. 61:3 (2018) 843-866.
87. GOOZE, K. G., SHAH, T. M., SOHRABI, H. R., RAINEY-SMITH, S. R., BROWN, B., VERDILE, G., et al. - **Examining the potential clinical value of curcumin in the prevention and diagnosis of Alzheimer's disease.** British Journal Nutrition. 115:3 (2016) 449-465.
88. VELMURUGAN, B. K., RATHINASAMY, B., LOHANATHAN, B. P., THIYAGARAJAN, V., WENG, C.-F. - **Neuroprotective Role of Phytochemicals.** Molecules: A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry. 23:10 (2018) 2485-2500.
89. HU, S., MAITI, P., MA, Q., ZUO, X., JONES, M. R., COLE, G. M., et al. - **Clinical development of curcumin in neurodegenerative disease.** Expert Review of Neurotherapeutics. 15:6 (2015) 629-637.