



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Bárbara Filipa Fernandes Ribeiro

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Papel do Zinco na Doença de Alzheimer” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Ana Sofia Baptista, da Dra. Beatriz Costa e do Professor Doutor Alcino Leitão apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2021



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Bárbara Filipa Fernandes Ribeiro

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Papel do Zinco na Doença de Alzheimer” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Ana Sofia Baptista, da Dra. Beatriz Costa e do Professor Doutor Alcino Leitão apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2021

Eu, Bárbara Filipa Fernandes Ribeiro, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2016240380, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Papel do Zinco na Doença de Alzheimer” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra no âmbito 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, 17 de setembro de 2021,

Bárbara Filipa Fernandes Ribeiro

(Bárbara Filipa Fernandes Ribeiro)

Agradecimentos

À minha família, aos meus pais, os melhores pais do mundo, e ao meu irmão, que me apoiaram e suportaram de forma incondicional. Obrigada por todos os abraços, todo o amor e carinho! Sem vocês o caminho nada disto teria sido possível.

A ti, a minha estrela, que me guia e apoia, que me ajuda sempre que preciso, sei que caminhas a meu lado e que me guardarás para o resto da vida.

Ao Santi, o meu pequenino, por me mostrar que uma criança pode ser a alegria em momentos de desespero e que é possível alcançar todos os sonhos, basta um sorriso e um abraço.

Às minhas Marias, a Maria do Céu e a Maria da Conceição, que estiverem sempre lá para dar uma palavra de conforto e de apoio, à distância de uma chamada nos momentos mais difíceis.

Ao terceiro esquerdo, à Bianca, à Maria, à Joana e à Beatriz por todos os momentos, por todas as memórias vividas dentro de quatro paredes e fora delas também, por todas as aventuras, é certo que temos muitas histórias para contar aos nossos netos.

Ao NEF/AAC, à nossa Casa, um agradecimento especial à Helena, pela amizade e confiança, pelo apoio, pelo abraço. Ao executivo, à direção, à minha família desta casa, obrigada por terem contribuído para esta jornada.

Ao Stefano, ao Hugo, à Beatriz, ao Simão, ao José, à Inês, ao Filipe e ao Guilherme, que me ensinaram que a amizade é uma das maiores riquezas que temos, obrigada pelo companheirismo, pela ajuda nos momentos de aflição e pela motivação, quando o cansaço já era muito.

Ao meu padrinho Ricardo, às minhas afilhadas, Bruna, Márcia, Sara e Sofia, ao meu afilhado Tiago, pela tradição, pelo penico e capa traçada, afinal Coimbra é sonho e saudade.

Ao meu Clã, à Lara, à Joana, à Beatriz, à Inês e à Catarina, pelas caminhadas, pelas gargalhadas e por todos os laços e nós que construímos até aqui.

À Chefe Sandra, pois sem ela talvez ser farmacêutica não teria sido opção, pelo auxílio e pela paciência ao longo dos 5 anos.

À Sara que me ajudou sempre que precisei dela, mesmo do outro lado do mundo, obrigada pela disponibilidade, pela amizade e carinho.

Ao Professor Doutor Alcino Leitão, por toda a paciência e auxílio, foi um prazer trabalhar consigo, obrigada por embarcar comigo nesta aventura.

À BasePoint, ao Dr. David, à Dra. Beatriz e à Dra. Carmen, por me acompanharem durante os três meses do meu Estágio Curricular, por me auxiliarem sempre que necessário, pela aprendizagem, pelo bom espírito de equipa e pela boa disposição durante o trabalho realizado.

À Farmácia Santa Isabel, à Dra. Ana Baptista, pela orientação e pelos conhecimentos transmitidos, à Dra. Ana Vaz e à Dra. Ana Rita Rodrigues, por todo o carinho, amizade e ajuda, por todas as horas, por todos os sorrisos.

Ao Sr. Rui, pelo abraço, pelas palavras sábias e conselhos, sei que me acompanhará para o resto da vida, hoje com um lugar no céu e no meu coração, um obrigada nunca será suficiente, até um dia.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, pelos últimos cinco anos, que me proporcionou uma das melhores e mais desafiantes experiências da minha vida.

Dedico esta monografia a todos vocês.

Um enorme obrigada!

Bá

ÍNDICE

CAPÍTULO I - RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

ABREVIATURAS	7
1. INTRODUÇÃO	8
2. FARMÁCIA SANTA ISABEL	9
3. ANÁLISE SWOT	10
3.1. Forças.....	10
3.1.1. Distribuição de Tarefas	10
3.1.2. Equipa Técnica da Farmácia.....	11
3.1.3. Receção de Encomendas.....	11
3.1.4. Aplicação de conhecimentos adquiridos	12
3.1.5. Preparação de Medicamentos Manipulados	12
3.1.6. Dinamismo e promoção das redes sociais.....	13
3.1.7. Diversidade de Serviços	13
3.1.8. Medicamentos de Uso Veterinário	13
3.2. Fraquezas.....	13
3.2.1. Lacunas na formação de MICF.....	13
3.2.2. Desconhecimento de nomes comerciais.....	14
3.2.3. Receitas Manuais	14
3.3. Oportunidades.....	15
3.3.1. Formações.....	15
3.3.2. <i>Cross-selling</i>	15
3.4. Ameaças	15
3.4.1. Pandemia COVID-19	15
3.4.2. Rutura de Stocks.....	16
3.2.1. Sifarma2000®	16
4. CASOS PRÁTICOS.....	16
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	18

CAPÍTULO II - RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM ASSUNTOS REGULAMENTARES

ABREVIATURAS	21
1. INTRODUÇÃO	22
2. BASEPOINT	23
3. ANÁLISE SWOT	23
3.1. Forças.....	24
3.1.1. Bom ambiente de trabalho e espírito de equipa.....	24
3.1.2. Formações iniciais.....	24
3.1.3. Autonomia.....	24
3.1.4. Diversidade	25
3.2. Fraquezas.....	25
3.2.1. Duração do estágio	25
3.2.2. Impossibilidade de estar presente em reuniões de equipa.....	25
3.2.3. Teletrabalho	25
3.3. Oportunidades.....	26

3.3.1.	Realização de um estágio na área.....	26
3.3.2.	Desenvolvimento de competências.....	26
3.3.3.	Suplementos alimentares.....	26
3.3.4.	REACH.....	27
3.4.	Ameaças.....	27
3.4.1.	Lacuna no plano curricular.....	27
3.4.2.	Documentos dos Clientes.....	27
4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28

CAPÍTULO III - O PAPEL DO ZINCO NA DOENÇA DE ALZHEIMER

ABREVIATURAS.....	30
RESUMO.....	32
ABSTRACT.....	33
1. DOENÇA DE ALZHEIMER.....	34
2. FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER.....	35
2.1. Colinérgica.....	35
2.2. Placas β -amiloides.....	35
2.3. Proteína Tau.....	35
2.4. Apolipoproteína E.....	36
2.5. Metais.....	36
3. ZINCO.....	38
3.1. Metabolismo do Zinco.....	38
3.2. Homeostase do Zinco.....	39
3.3. Fisiopatologia da Doença de Alzheimer e o Zinco.....	41
3.3.1. O Zinco e a Proteína Precursora Amiloide.....	41
3.3.2. O Zinco e o Peptídeo β A.....	41
3.3.3. O Zinco e a Proteína Tau.....	42
3.3.4. O Zinco na Autofagia.....	42
3.3.5. O Zinco e os <i>Brain Derived Neurotrophic Factor</i>	43
3.3.6. <i>Zinc Finger Proteins</i>	43
4. A DEFICIÊNCIA DE ZINCO E A DOENÇA DE ALZHEIMER.....	44
5. MOLÉCULAS DIRECIONADAS AO ZINCO.....	44
5.1. Agentes Quelantes.....	45
5.1.1. Compostos Atenuadores da interação Proteína-Metal.....	46
5.1.2. Cloroquinol.....	46
5.1.3. PBT2.....	47
5.1.4. Derivados de aminopiridina.....	48
5.1.5. Derivados de Aminofenol.....	48
5.1.6. Derivados de flavonóides.....	48
5.2. Derivados de Emodina.....	49
5.3. Complexos de Zinco e Selênio.....	50
6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	52
7. BIBLIOGRAFIA.....	53

CAPÍTULO I

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

FARMÁCIA SANTA ISABEL

ABREVIATURAS

ANF – Associação Nacional das Farmácias

FSI – Farmácia Santa Isabel

MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MSRM – Medicamento Sujeitos a Receita Médica

PVP – Preço de Venda ao Público

I. INTRODUÇÃO

Os Farmacêuticos são Profissionais de Saúde com capacidade de integrar qualquer parte da cadeia de produção do medicamento, desde a sua génese à sua dispensa, garantindo sempre a melhor qualidade e aconselhamento quando facultado aos doentes.

Como Agentes de Saúde Pública e perante uma pandemia, a COVID-19, o Farmacêutico é cada vez mais, a primeira linha de opção de muitos doentes, fazendo com que o aconselhamento por parte destes profissionais seja imprescindível e importante no quotidiano dos demais.

O Estágio em Farmácia de Oficina torna-se crucial no percurso académico de qualquer estudante de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, assumindo um papel de extrema importância na fase final da formação dos estudantes. Durante este percurso têm a possibilidade colocar em prática os conhecimentos adquiridos durante quatro anos e meio, bem como expandir os seus conhecimentos a nível do mercado de trabalho.

O meu Estágio Curricular realizou-se na Farmácia Santa Isabel em Coimbra, entre o dia 12 de abril e 30 de julho, com a orientação da Dra. Ana Sofia Baptista.

O presente relatório está redigido de acordo com o Sistema *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats* (SWOT), abordando de forma crítica o percurso realizado ao longo deste período.

2. FARMÁCIA SANTA ISABEL

A Farmácia Santa Isabel (FSI) localiza-se na Av. Sá da Bandeira 28, 3000-350, no centro de Coimbra.

A FSI é constituída por dois andares e apresenta instalações modernas e adequadas, realizando com qualidade todo o tipo de serviços que oferece. No interior da farmácia é possível observar três balcões de atendimento individualizados, os quais permitem a realização do atendimento por parte dos profissionais. A exposição de diversos Produtos de Saúde está agrupada por áreas distintas de atuação, tais como a área de Bebê, Espaço Animal, Saúde Oral, entre outros, e acessíveis ao cliente. Estas áreas estão devidamente identificadas e sinalizadas de modo a facilitar a procura por parte dos doentes. Os Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) encontram-se em exposição, no entanto, não se apresentam acessíveis ao doente. Ainda nesta parte inicial da farmácia é possível observar uma área de prestação de serviços, onde se encontram alguns dos dispositivos que auxiliam na realização desta prestação, nomeadamente uma balança e um tensiómetro. Apresenta também, uma área de receção e gestão de encomendas, instalações sanitárias, um local de armazenamento de medicamentos e dispositivos médicos, um gabinete da direção técnica, e por fim, no primeiro piso, um laboratório destinado à preparação de Medicamentos Manipulados (MM) e um Gabinete de Utente, onde são efetuados outros Serviços disponibilizados pela FSI, nomeadamente Nutrição e Podologia.

A equipa técnica é constituída por quatro profissionais de saúde, dos quais três são farmacêuticos e um Técnico Auxiliar de Farmácia, o Sr. Rui Borges. A Direção Técnica da FSI encontra-se a cargo da Dra. Ana Sofia Baptista, e em caso de ausência, pela Farmacêutica Substituta, Dra. Ana Vaz e a Farmacêutica Dra. Ana Rita Rodrigues.

O horário de funcionamento do estabelecimento é das 8h às 20h de segunda a sexta-feira, e das 8h às 13 h ao sábado, salvo em dias de serviço, em que o horário de funcionamento é alargado, correspondendo a 24 h, assegurando assim a dispensa e aconselhamento aos doentes em situações de emergência.

O Sistema Informático utilizado na Farmácia é o Sifarma2000[®], uma ferramenta de mercado que permite a gestão de atendimento nas farmácias. Este sistema foi desenvolvido pela Associação Nacional das Farmácias (ANF), e a sua gestão e manutenção é efetuada pela empresa de Consultoria e Serviços Tecnológicos, a Glintt.

O público-alvo da farmácia é constituído maioritariamente pessoas mais idosas e clientes fidelizados, que têm como preferência a prestação de serviços por parte dos profissionais da FSI. A FSI é conhecida pelo seu vasto *stock* em Produtos e Medicamentos de

Uso Veterinário, sendo esta uma farmácia de referência para muitas pessoas que necessitam de medicamentos nesta área.

3. ANÁLISE SWOT

A Análise SWOT é uma ferramenta utilizada por muitas empresas, no sentido de realizar uma análise crítica, um planeamento estratégico e uma gestão ponderada com base nas vertentes interna e externa. A vertente interna é composta pelas Forças (*S-Strengths*) e pelas Fraquezas (*W-Weaknesses*), a vertente externa, por sua vez, corresponde às Oportunidades (*O-Opportunities*) e às Ameaças (*T-Threats*).

Esta Análise SWOT tem como principal objetivo identificar as forças, fraquezas, oportunidades e ameaças ao longo do meu estágio curricular.

Tabela 1 - Análise SWOT do Estágio Curricular em Farmácia de Oficina.

Forças	Fraquezas
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Distribuição de Tarefas; ▪ Equipa Técnica da Farmácia; ▪ Receção de Encomendas; ▪ Aplicação de conhecimentos adquiridos; ▪ Preparação de Medicamentos Manipulados; ▪ Dinamismo e promoção das redes; ▪ Diversidade de Serviços; ▪ Medicamentos de Uso Veterinário. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Lacunas na formação de MICEF; ▪ Desconhecimento de nomes comerciais; ▪ Receitas Manuais.
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Formações; ▪ Cross-selling. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Pandemia COVID-19; ▪ Rutura de Stocks; ▪ Sifarma2000®.

3.1. Forças

3.1.1. Distribuição de Tarefas

O Estágio Curricular iniciou-se no dia 12 de abril às 9 h da manhã, dia e hora agendada com a Dra. Ana Baptista anteriormente. Numa primeira instância a Dra. Ana Baptista indicou-me que ela seria a Orientadora do meu estágio, e apresentou-me as instalações e a Equipa Técnica com quem eu iria trabalhar durante esse período.

Posteriormente informou-me quais seriam as minhas tarefas, bem como as responsabilidades de cada profissional de saúde na farmácia. Numa primeira fase, a receção das encomendas, bem como a contagem de *stocks* ficou ao meu encargo e posteriormente, quando possível e com a devida preparação, o atendimento ao balcão.

3.1.2. Equipa Técnica da Farmácia

A Equipa Técnica da Farmácia Santa Isabel é constituída por quatro pessoas, três delas Farmacêuticas, a Dra. Ana Baptista, Diretora Técnica, a Dra. Ana Rita Rodrigues, Farmacêutica, a Dra. Ana Vaz, Farmacêutica Substituta, e o Técnico Auxiliar de Farmácia, o Sr. Rui Borges. Uma equipa extremamente proativa, motivada e organizada, tendo sempre como principal foco o doente e o seu bem-estar, primando sempre por um serviço de excelência. Pessoas afáveis e acolhedoras, que desde logo se aprontaram a integrar-me da melhor forma possível. Ao longo deste percurso, sempre que foi necessário esclarecer dúvidas ou questões, estiveram sempre presentes e prontos a ajudar. Em momentos, em que não procedi da maneira mais correta, elucidaram-me e explicaram-me de que maneira deveria efetuar determinada questão para que noutro momento o pudesse realizar da melhor forma possível, permitindo assim evitar erros e aprimorar o trabalho realizado. A simpatia e prontidão são características chave desta equipa, o que me fez criar desde cedo laços com a mesma, refletindo-se também no dia-a-dia, pela preferência dos clientes, que se aí se deslocam pela confiança e amizade que nutrem pelos profissionais de saúde da FSI.

3.1.3. Receção de Encomendas

Numa primeira instância do estágio curricular procedi à receção de encomendas e armazenamento de produtos das mais variáveis índoles.

A receção de encomendas tem por base o uso do Sifarma2000[®] e é necessária a fatura ou guia de remessa da encomenda em questão. Ao longo do processo é preciso ter alguns fatores em conta, nomeadamente o prazo de validade, substituindo sempre que necessário, o preço faturado e o Preço de Venda ao Público (PVP). Os medicamentos que são armazenados no frio, devem ser de imediatamente colocados no frigorífico, de modo a assegurar a qualidade dos medicamentos. Deve-se ter em conta se todos os medicamentos/produtos rececionados se encontram danificados e/ou se há troca de produtos, de modo a proceder à sua devolução, caso seja necessário.

Após a receção dos produtos procede-se ao seu armazenamento. Os Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) não estão ao alcance dos clientes. Encontram-se

armazenados em diferentes secções de acordo com a forma farmacêutica dos medicamentos. Os MNSRM encontram-se visíveis na zona de atendimento, mas não ao alcance do consumidor, enquanto os restantes Produtos de Saúde se encontram distribuídos por outras áreas da farmácia. Os diferentes medicamentos, dispositivos médicos e outros produtos em excesso são devidamente acondicionados e identificados no primeiro andar da farmácia.

Considero que a realização da receção de encomendas é de crucial, pois permite-nos perceber que produtos podemos dispensar, quais as suas margens de lucro, ter contacto com os diferentes nomes comerciais e as diferentes apresentações, algo que não temos tanto conhecimento. Dá-nos, ainda, uma preparação sobre os diferentes produtos e os seus locais de armazenamento, facilitando a transição para a etapa seguinte: o atendimento ao balcão.

3.1.4. Aplicação de conhecimentos adquiridos

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas é um curso que nos permite angariar as mais diversas valências ao longo dos cinco anos. Nesta reta final, do estágio curricular, tornam-se imprescindíveis as bases que as diferentes Unidades Curriculares nos transmitiram.

Na dispensa de medicamentos e aconselhamento farmacoterapêutico estas bases têm um papel preponderante nas tomadas de decisão na hora do atendimento. Nos Serviços prestados na farmácia como as diferentes medições da Pressão Arterial, do Colesterol e da Glicémia, tornam-se fulcrais as bases para a interpretação dos resultados, e posteriormente o devido aconselhamento de medidas não farmacológicas ou outras.

3.1.5. Preparação de Medicamentos Manipulados

A FSI, no seu primeiro andar, apresenta um laboratório destinado à Preparação de Medicamentos Manipulados, preparações solicitadas regularmente por parte dos clientes habituais ou não da farmácia.

Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de efetuar algumas preparações de manipulados, onde consegui aplicar conhecimentos adquiridos na Unidade Curricular de Galénica. Os medicamentos manipulados realizados foram maioritariamente pomadas.

3.1.6. Dinamismo e promoção das redes sociais

A Farmácia Santa Isabel possui duas páginas nas redes sociais, nomeadamente no *Facebook* e no *Instagram*, no decorrer do estágio ficou ao meu encargo a realização de diversas publicações em ambas as páginas. As publicações tiveram por base campanhas promocionais ou comemorações de datas importantes ligadas à saúde.

3.1.7. Diversidade de Serviços

A FSI oferece serviços de podologia e aconselhamento nutricional, para além das medições da Pressão Arterial, do Colesterol e da Glicémia. Para efetuar a medição da Pressão Arterial, existe uma zona destinada especificamente para o serviço, na área de atendimento. A medição do colesterol e da glicémia era executada na hora, ao balcão, questionando sempre o doente se este se encontrava em jejum, por forma a obter resultados mais fidedignos. Os serviços de podologia e aconselhamento nutricional eram realizados no gabinete destinado para o efeito, no primeiro andar, mensalmente. Para além destes serviços, também era realizada a Preparação da Medicação Individualizada para determinados doentes, executado pela Farmacêutica que estava a cargo desta tarefa.

3.1.8. Medicamentos de Uso Veterinário

A FSI é considerada uma farmácia de referência em Coimbra, no que respeita os Medicamentos de Uso Veterinário, sendo a primeira opção dos clientes quando necessitam deste tipo de produtos e por vezes consultada por parte de outras farmácias em relação à existência de determinados produtos.

Para além de um elevado número de produtos não sujeitos a receita médica presentes no espaço animal, apresenta uma grande variedade de MSRM. A existência de contactos de emergência de veterinários, torna-se por vezes crucial para o auxílio de clientes, para esclarecer dúvidas e questões que vão surgindo, e permite-nos aconselhar os clientes da melhor forma possível.

3.2. Fraquezas

3.2.1. Lacunas na formação de MICE

Ao longo do percurso académico são diversas as Unidades Curriculares que nos fornecem as bases para desempenhar o nosso papel como Profissionais de Saúde da melhor forma possível. No entanto a existência de apenas uma Unidade Curricular sobre

Preparações de Uso Veterinário, e tendo em conta o que é lecionado nesta disciplina, torna-se insuficiente para aconselhar e ajudar aqueles que nos procuram neste âmbito.

3.2.2. Desconhecimento de nomes comerciais

O conhecimento das substâncias ativas dos diversos medicamentos existentes no mercado torna-se uma ferramenta indispensável no nosso dia-a-dia, no entanto a existência de diversos nomes comerciais para a mesma substância ativa é um desafio que surge ao longo do percurso. Maioritariamente das vezes, as pessoas que recorrem à farmácia solicitam os medicamentos e outros produtos pelos nomes comerciais, nomes que por vezes são desconhecidos por parte dos estagiários, visto que não é uma temática muito abordada ao longo da formação académica.

3.2.3. Receitas Manuais

Apesar da informatização ocorrida ao longo dos últimos anos e das receitas se basearem principalmente no modo eletrónico, as receitas manuais ainda são uma realidade bastante presente no dia-a-dia.

As Receitas Manuais para serem válidas necessitam de cumprir várias especificações. Os prescritores devem assinalar um motivo, no canto superior direito da receita, o motivo de exceção, como por exemplo a falência informática, inadaptação fundamentada do prescriptor, prescrição no domicílio ou até 40 receitas/mês. O modelo da receita médica manual é exclusivo da Imprensa Nacional – Casa da Moeda, bem como as vinhetas em vigor, sendo o uso destas obrigatório. As receitas não podem conter rasuras, caligrafias diferentes e não podem ser prescritas com canetas diferentes ou a lápis, não é permitida mais do que uma via da receita manual, o número de embalagens prescritas deve constar em cardinal e por extenso. Para que a receita seja válida existem outras especificidades, tais como: o prescriptor deve incluir a identificação do local, vinheta identificativa do prescriptor, especialidade médica (se aplicável) contacto e endereço de correio eletrónico; nome e número do SNS do utente, sempre que aplicável; data da prescrição e assinatura do prescriptor, entre outras.¹

O contacto com esta realidade é sempre uma mais-valia, no entanto a constatação de erros é muito comum, tornando as receitas inválidas e a dispensa de medicamentos por parte dos profissionais impossível.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Formações

Durante o período de estágio foi possível realizar diversas formações, tanto na farmácia, como *online*. As inscrições para estes eventos ocorriam através de *email*. Tive oportunidade de realizar formações no âmbito da saúde oral, genital, cardiovascular, animal e outras, que me permitiram aprofundar alguns conceitos e temas anteriormente apreendidos, bem como conhecer melhor os produtos que existem no mercado, de modo a melhorar o auxílio e a prestação de cuidados de saúde.

3.3.2. *Cross-selling*

A rentabilidade da farmácia torna-se um assunto de pertinência, cada vez mais, tendo por base a situação pandémica e o surgimento de grandes superfícies e preços mais competitivos.

O método de *Cross-selling* é muito usado na FSI, pois permite manter o equilíbrio entre a rentabilidade dos produtos e o atendimento aos doentes. Esta técnica consiste em complementar, associar outros produtos ao primeiro solicitado por parte do cliente. Trata-se de oferecer um melhor serviço, uma solução para o problema em questão, através da oferta de MNSRM, ou outros produtos de saúde com vista a melhorar o bem-estar do doente.

3.4. Ameaças

3.4.1. Pandemia COVID-19

O surgimento da Pandemia COVID-19 em março de 2020, em Portugal, modificou a vida da população de uma forma inexplicável. Para além do dispensador de álcool gel e o uso de máscara obrigatório, o surgimento de placas de acrílico nos balcões dificultou a comunicação com os clientes, não permitindo uma boa audição quer do profissional de saúde quer do doente.

A pandemia diminuiu o fluxo dos clientes à farmácia, movidos pelo medo, ou pela procura de um local mais perto da sua residência, diminuindo assim os lucros e complicando de certo modo a situação económica da farmácia. Também foi perceptível o decréscimo da ida dos doentes aos centros de saúde, afirmando que com a pandemia se tornou mais complicado o agendamento de consultas e a solicitação de receitas eletrónicas.

3.4.2. Rutura de Stocks

Ao longo do período do estágio, foi possível constatar a falta de alguns produtos na farmácia, nomeadamente dos medicamentos solicitados por clientes habituais. Por vezes, os medicamentos em questão não estavam disponíveis em nenhum armazém, impossibilitando a dispensa da medicação, solicitando aos mesmos que recorressem ao seu médico para uma nova prescrição. Este tipo de acontecimentos levou ao descontentamento dos clientes, fazendo com que muitos procurassem outro local para a dispensa desses medicamentos, perdendo-se assim potenciais vendas.

3.2.1. Sifarma2000®

O Sifarma2000®, como dito anteriormente, é o sistema informático instalado na farmácia, cuja manutenção é efetuada pela Glintt e que permite realizar todos os procedimentos eletrónicos necessários para o bom funcionamento da farmácia. Este *Software*, durante o período do meu estágio, encontrou-se por vezes em baixo, tendo bloqueado nos momentos de atendimento, o que originou um sentimento de constrangimento. A ocorrência deste tipo de episódios fez com que os atendimentos demorassem mais do que o previsto, que o tempo de espera por parte dos clientes aumentasse e consequentemente que os clientes mostrassem desagrado.

4. CASOS PRÁTICOS

4.1. Queda de pêlo

Um senhor, com cerca de 40 anos, após a dispensa de medicamentos de uma receita eletrónica, afirmou que o seu cão labrador apresentava uma queda anormal de pêlo, tendo em conta que já passou pela mudança de pelagem. Questionou assim, se a farmácia tinha algum produto que pudesse ser útil face a este problema.

Foi-lhe aconselhado um suplemento alimentar, Complexo Derme da Patta, rico em ómega-3 e ómega-6, indicado para recuperar ou manter o vigor e a integridade da pele e pêlo, permitindo assim o apoio à função dérmica no caso de alopecia. A sua forma farmacêutica é em cápsulas, e quanto à sua posologia, tendo em conta o peso do animal 27kg, é indicada a toma de 3 cápsulas por dia. Para complementar a terapêutica também foi indicado um *Snack* indicado para a pele e

pêlo, rico em polpa de aloé vera, ómega-3 e ómega-6, podendo dar em jeito de recompensa ao animal.

4.2. Bolas de pêlo

Uma Senhora, na casa dos 30 anos, dirigiu-se à farmácia no sentido de adquirir um produto destinado a uso veterinário, para solucionar as bolas de pêlo da gata que tinham sido constantes nos últimos tempos.

Tendo em conta os factos, questionou-se a cliente sobre a idade do animal, à qual respondeu que era adulta. Aconselhou-se a utilização da Pasta de Malte da Patta. A Pasta de Malte é composta por taurina e ácidos gordos, como ómega-3 e ómega-6, que permitem a regulação do metabolismo do animal e obter um pêlo mais forte e mais brilhante. Este produto está indicado para os distúrbios digestivos, em situações de obstipação persistente e evita a formação de bolas de pêlo. Quanto à posologia, tendo em conta a idade do animal, indicou-se a administração de 4 cm de pasta, duas vezes por semana. Caso não conseguisse administrar via oral, deveria colocar na pata do animal, que por instinto irá lambe e administrar o produto.

4.3. Esporão calcâneo

Mulher, na casa dos 50 anos, dirige-se à farmácia no sentido de esclarecer dúvidas em relação a uma protuberância que surgiu no pé do marido, indicando que seria um esporão formado na parte de trás do pé, junto ao calcanhar.

O esporão no osso calcâneo, na zona do calcanhar, corresponde ao crescimento anormal do osso, sendo necessária a sua remoção em caso de desconforto. No entanto, no sentido de auxiliar as dores provocadas pelo mesmo foi aconselhado um anti-inflamatório local, nomeadamente Diclofenac Bluepharma gel 10mg/g, e uma palmilha ortopédica.

As palmilhas, umas calcanheiras, da Urgo, no sentido de ajudar o movimento e de diminuir as dores sentidas ao andar. O Diclofenac é um anti-inflamatório e analgésico indicado para as dores musculares ligeiras e moderadas, contusões e dores pós traumáticas, este pode ser aplicado 3 a 4 vezes ao dia consoante a necessidade.²

No entanto, a mulher foi alertada que se tratava de uma alternativa temporária, porque não permitia o tratamento definitivo, foi-lhe aconselhado a visita ao médico para proceder à extração do esporão.

4.4. Desconforto Vaginal

Mulher com aproximadamente 30 anos recorre à farmácia com queixas a nível vaginal, afirmando que tem ardor e comichão na zona íntima. A candidíase vaginal é uma das infeções mais comuns na mulher, onde ocorre a disbiose da microbiota vaginal provocada maioritariamente das vezes pelo fungo *Candida albicans*. Assumindo que se trata de uma candidíase vaginal, é aconselhado o Candiset 7 dias e um gel íntimo. No entanto, a mesma afirma que já efetuou o tratamento com Clotrimazol e que não sentiu melhorias, afirmou ainda que apresenta feridas exteriores, provavelmente causadas pelo ato de coçar. Neste sentido, indicou-se a utilização de um gel íntimo nomeadamente o Saforelle, e caso não observasse melhorias que recorresse ao médico, de modo a despistar a contração de alguma doença sexualmente transmissível.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao longo do meu Estágio Curricular consegui comprovar o papel fundamental que o Farmacêutico, como Profissional de Saúde e Agente de Saúde Pública, pode exercer no quotidiano da Sociedade. Durante 3 meses e meio foi possível denotar que muitas vezes o Farmacêutico é a primeira opção quando se necessita de ajuda, recorrendo apenas depois ao Médico, caso seja necessário. Há uma perceção de cada palavra que proferimos tem um peso e uma medida para cada doente que se atravessa no nosso caminho. Por vezes, somos desvalorizados ou colocados em situações desconfortáveis devido à falta de confiança de alguns cidadãos, permitindo-nos perceber que a sociedade é heterogénea e composta por diferentes perfis.

Considero de extrema importância a realização deste Estágio Curricular, apesar de obrigatório, com o culminar de quatro anos e meio de conteúdos teóricos, torna-se imprescindível a aplicação dos mesmos e o contacto com o mundo real. Esta experiência permite a aplicação e o aprofundamento de conhecimentos, o desenvolvimento de competências no trabalho em equipa e no atendimento ao público. Permite também o contacto com nomes comerciais e com a fase final do ciclo do medicamento, bem como com a rotina desempenhada numa farmácia.

Um agradecimento especial à Equipa da FSI, que ao longo deste estágio me proporcionou um ambiente de trabalho incrível, que contribuiu para o meu crescimento profissional e pessoal. A troca de experiências e o espírito de ajuda permitiu-me adquirir ferramentas e conhecimentos que serão, certamente, aplicados um dia mais tarde. Finalizo assim o meu estágio, certa de que levo comigo uma enorme bagagem e que me encontro mais preparada para exercer esta profissão enquanto farmacêutica.

CAPÍTULO II

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM ASSUNTOS REGULAMENTARES

BASE POINT *Consulting Services*

ABREVIATURAS

BasePoint – Base Point *Consulting Services*

CIR – *Cosmetic Ingredient Review*

CosIng – *Cosmetic Ingredient database*

ECHA – *European Chemicals Agency*

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

PIF – Ficheiro de Informação do Produto

REACH – Registo, Avaliação, Autorização e Restrição de Produtos Químicos

SCCS – *Scientific Committee on Consumer Safety*

I. INTRODUÇÃO

A Área Farmacêutica é um mundo de oportunidades na qual encontramos um conjunto de pequenas áreas que permite aos estudantes escolherem de acordo com a sua preferência e perspetiva futura, desde a Farmácia Comunitária à Indústria Farmacêutica. O Mestrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) é composto por diversas Unidades Curriculares, incluindo Assuntos Regulamentares, área que desde cedo despertou o meu interesse, culminando na realização do meu estágio nesta vertente, na Base Point *Consulting Services*.

No ramo dos Assuntos Regulamentares existem muitas empresas no âmbito de medicamentos, dispositivos médicos, suplementos alimentares e cosméticos, áreas em que as competências de um farmacêutico podem ser fulcrais e úteis.

O Apoio Regulamentar a empresas é constante, principalmente naquelas que ambicionam a colocação de um produto no mercado português. Neste sentido, a Pessoa Responsável, a qual corresponde a uma entidade coletiva ou singular sediada na União Europeia, deve apresentar um documento com as informações relevantes sobre o produto que pretende colocar no mercado. Esta entidade deve garantir que os produtos, nomeadamente os cosméticos, cumprem as regulações aplicadas e leis em vigor, assegurando assim que os mesmos são seguros para a sociedade. A Pessoa Responsável pode ser o fabricante, distribuidor, importador ou mandatário estabelecido na União Europeia.³

Ao longo do estágio curricular foi possível desenvolver e aprofundar conhecimentos nesta área, permitindo o contacto com realidades diferentes, tais como os Suplementos Alimentares e Produtos Cosméticos. Apesar dos Produtos Cosméticos e a área da Dermofarmácia serem bastante abordados ao longo do plano curricular, a componente de Suplementos Alimentares não é lecionada da mesma forma, pelo que trabalhar neste contexto se verificou um desafio e uma experiência extremamente enriquecedora. Devido à situação pandémica o modo de trabalho necessitou ser reinventado para o modo *online*, nomeadamente em teletrabalho, permitindo um maior comodismo, uma vez que passámos a trabalhar a partir de casa. No entanto, experienciámos a desvantagem do não conhecimento físico da empresa, tendo em conta as normas definidas pelo governo face à pandemia.

O meu Estágio Curricular em Assuntos Regulamentares realizou-se no período temporal, de 11 de janeiro a 9 de abril, sob orientação da Dra. Beatriz Costa.

Serve o presente relatório para expor a experiência do estágio curricular recorrendo a uma Análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), análise crítica da minha aprendizagem enquanto parte desta equipa ao longo do meu estágio curricular.

2. BASEPOINT

A Base Point *Consulting Services* consiste numa empresa de serviços de consultoria, que presta serviços de apoio a empresas, tais como inspeções, certificações e notificações. A Empresa encontra-se sediada em Coimbra, desde 2015, exportando os seus serviços além-fronteiras. O trabalho desta empresa passa muito pela Área Regulamentar, nomeadamente em serviços de consultoria para as indústrias de cosméticos, suplementos alimentares, dispositivos médicos, biocidas e produtos químicos.

A empresa localiza-se na Rua Padre Estevão Cabral 79 S416, 300-317 em Coimbra. O seu horário de funcionamento é das 9 h às 19 h, durante os dias úteis e encontra-se fechada ao sábado e ao domingo.

3. ANÁLISE SWOT

O relatório do meu estágio curricular encontra-se redigido na forma de análise SWOT, a qual tem como objetivo expor de forma crítica e sistemática a minha experiência ao longo do Estágio Curricular como parte integrante desta empresa. A análise SWOT contempla duas áreas, a área interna e a área externa, onde por sua vez a vertente interna é composta pelas Forças (*S-Strengths*) e pelas Fraquezas (*W-Weaknesses*), e a vertente externa, pelas Oportunidades (*O-Opportunities*) e as Ameaças (*T-Threats*).

Tabela II - Análise SWOT do Estágio Curricular em Assuntos Regulamentares.

Forças	Fraquezas
<ul style="list-style-type: none">▪ Bom ambiente de trabalho e espírito de equipa;▪ Formações iniciais;▪ Autonomia;▪ Diversidade.	<ul style="list-style-type: none">▪ Duração do estágio;▪ Impossibilidade de estar presente em reuniões de equipa;▪ Teletrabalho.
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none">▪ Realização de um estágio na área;▪ Desenvolvimento de competências;▪ Suplementos alimentares;▪ REACH.	<ul style="list-style-type: none">▪ Lacuna no plano curricular;▪ Documentos dos Clientes.

3.1. Forças

3.1.1. Bom ambiente de trabalho e espírito de equipa

A *Base Point Consulting Services* consiste numa microempresa, constituída por uma equipa multidisciplinar. Ao longo do meu estágio estive em contacto com diferentes profissionais, uma equipa extremamente acolhedora e motivada, sempre disposta a ajudar. Qualquer dúvida ou questão que foi surgindo ao longo do meu estágio curricular, foi prontamente resolvida. Apesar do estágio decorrer em teletrabalho, através da plataforma *Teams* da *Microsoft* foi sempre possível efetuar uma comunicação fácil e eficaz com os restantes elementos da equipa, bem como com o meu colega de estágio. Tive o prazer de realizar o estágio com mais um colega de curso, onde o espírito de entreatajuda foi constante.

3.1.2. Formações iniciais

O Estágio Curricular iniciou-se no dia 11 de janeiro pelas 10 horas da manhã, onde foi informado o horário de estágio, bem como algumas formações sobre temas que seriam cruciais para as funções que iria desempenhar dali para a frente. O primeiro módulo teve por base a elucidação sobre alguns Regulamentos (CE), Decretos-leis, bem como outras diretivas importantes a reter para a realização da Rotulagem e do Ficheiro de Informação do Produto (PIF) de diferentes Produtos Cosméticos. Como por exemplo, o Regulamento (CE) n.º 1223/2009 de 30 de novembro³ e o Decreto-Lei n.º 189/2008, de 24 de setembro⁴, documentos essenciais para realizar os PIFS solicitados por parte dos clientes.

Posteriormente, foi disponibilizado por parte do Orientador de Estágio documentos base para a realização dos PIFs e documentos de Rotulagem, onde explicou como formatar e inserir as devidas referências bibliográficas nos mesmos. Por fim, o conhecimento de algumas plataformas tornou-se essencial para a concretização dos diversos trabalhos, nomeadamente o *Cosmetic Ingredient database* (CosIng), o *Cosmetic Ingredient Review* (CIR), a *European Chemicals Agency* (ECHA) e o *Scientific Committee on Consumer Safety* (SCCS).

3.1.3. Autonomia

A autonomia é algo que caracteriza o trabalho realizado pelos estagiários. Durante o período de estágio, as tarefas são designadas no início e apenas apresentadas e corrigidas quando finalizadas. Este tipo de prática demonstra a confiança no trabalho efetuado por parte do estagiário equiparando-o a outro profissional presente na empresa.

3.1.4. Diversidade

A BasePoint é uma empresa de Consultoria que atua em diversas áreas, permitindo aos estagiários expandir os seus conhecimentos por áreas não tão abordadas ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), tais como Produtos Cosméticos, Suplementos Alimentares, Rotulagem, REACH, entre outras.

Ao longo do estágio consegui realizar alguns projetos inicialmente na área da rotulagem de diversos produtos cosméticos, depois na realização de PIFs na área da Cosmética e por fim na área dos Suplementos Alimentares.

3.2. Fraquezas

3.2.1. Duração do estágio

A duração do estágio é considerada curta, tendo em conta a área abrangente que são os Assuntos Regulamentares. Infelizmente, o período de Estágio Curricular, não nos possibilita o aprofundamento de conhecimentos nas áreas que constituem a empresa, tais como Dispositivos Médicos ou Biocidas. Um período de tempo mais alargado possibilitaria a aquisição de novas ferramentas.

3.2.2. Impossibilidade de estar presente em reuniões de equipa

Ao longo do estágio curricular foram diversos os trabalhos realizados na área da rotulagem, produtos cosméticos, suplementos alimentares, entre outros. No entanto, nunca foi possível estar presente em reuniões de equipa ou de clientes, todas as reuniões efetuadas foram apenas com a Orientadora de Estágio ou outros Colaboradores, sempre a título individual com os dois estagiários.

3.2.3. Teletrabalho

A realização do teletrabalho tem as suas vantagens, no entanto, também apresenta as suas desvantagens no sentido de não haver um contacto mais pessoal com a empresa. A existência de uma pandemia, a COVID-19, não permitiu aos estagiários desfrutarem desta experiência a 100%. Apesar do comodismo, a pandemia impossibilitou o conhecimento das instalações, bem como o ambiente de trabalho na empresa e conseqüentemente da aproximação à equipa.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Realização de um estágio na área

Com o culminar de quatro anos e meio de conhecimentos teóricos adquiridos no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, torna-se difícil a decisão de que ramo escolher dentro das diferentes vertentes da Área Farmacêutica. Considero assim a realização deste estágio, uma enorme oportunidade, no sentido de perceber em que contextos reais o Farmacêutico se consegue inserir. Apesar da pandemia COVID-19, e do teletrabalho, a realização deste tipo de estágios é de extrema importância para que os estudantes contactem com o mercado de trabalho e assim adquiriram outras competências que serão certamente importantes, no seu futuro.

3.3.2. Desenvolvimento de competências

Os três meses de estágio permitiram-me consolidar conhecimentos anteriormente adquiridos, bem como desenvolver novas competências. Numa primeira instância familiarizei-me com Produtos Cosméticos, que segundo a sua definição é considerado um Produto Cosmético «qualquer substância ou mistura destinada a ser posta em contacto com as partes externas do corpo humano (epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos) ou com os dentes e as mucosas bucais, tendo em vista, exclusiva ou principalmente, limpá-los, perfumá-los, modificar-lhes o aspeto, protegê-los, mantê-los em bom estado ou corrigir os odores corporais»³. De salientar que os Produtos Cosméticos são regulados pelo INFARMED. Para assegurar uma supervisão do mercado eficaz, deverá existir um ficheiro de informações sobre o produto³, ficheiros que foram realizados ao longo do estágio curricular dos mais variados produtos cosméticos.

Para realizar toda a documentação ao longo deste período foi utilizado o *Office 365*, na sua versão mais atualizada, e as ferramentas subjacentes ao mesmo. Permitindo assim o aprimoramento da utilização do mesmo, e desta forma o desenvolvimento dos mais diversos trabalhos quer na área da cosmética, quer na área dos suplementos alimentares.

3.3.3. Suplementos alimentares

No decorrer do percurso académico não são abordados temas como Suplementos Alimentares, estes como a sua definição indica «são géneros alimentícios que se destinam a complementar ou suplementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de nutrientes ou outras substâncias com efeito nutricional ou fisiológico,

comercializadas em forma doseada e que se destinam a ser tomados em unidades de medida de quantidade reduzida»⁵. Estes devem ser notificados à Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Numa fase final do estágio procedeu-se à realização de Tabelas de Notificação de vários Suplementos Alimentares, bem como análises dos rótulos dos mesmos, posteriormente revistas e corrigidas pela Dra. Cármen.

3.3.4. REACH

Para além das formações iniciais, das principais áreas onde efetuámos trabalhos, foi realizada uma formação sobre o REACH, sigla que significa “Registo, Avaliação, Autorização e Restrição de Produtos Químicos”. Falamos de um regulamento da União Europeia que visa melhorar tanto a proteção Humana como ambiental, face às consequências que podem advir da utilização de Produtos Químicos. Os riscos de cada substância química devem ser medidos, caso estes não sejam mensuráveis, as substâncias devem ser retiradas. As empresas devem assim apresentar à ECHA o modo de utilização de cada substância e a gestão de riscos da mesma.

3.4. Ameaças

3.4.1. Lacuna no plano curricular.

Após a realização destes Estágio Curricular é de considerar a existência de uma lacuna no plano curricular de MICF, tanto na área da Cosmética, como na área da Suplementação, no âmbito regulamentar. Infelizmente, apesar das competências teóricas adquiridas ao longo do percurso escolar, torna-se impossível a sua aplicação em contexto real, sem o conhecimento das bases legais, na realização dos mais variados documentos necessários para a circulação dos produtos no mercado.

3.4.2. Documentos dos Clientes

Os Ficheiros de Informações do Produto (PIF), documentos necessários para a introdução dos Produtos Cosméticos no Mercado em Portugal, são realizados de acordo com as informações fornecidas por parte dos Clientes. No entanto, por diversas vezes foi possível constatar a falta de documentação e informações de matérias-primas utilizadas na formulação dos Produtos Cosméticos. No âmbito dos Suplementos Alimentares, aquando da análise da rotulagem, foi possível verificar a ausência de informações necessárias para a realização da mesma com sucesso. Foi, portanto, necessário, em ambas as situações, o

contacto com os clientes de modo a solicitar as informações em falta, processo que, de certo modo, atrasou o trabalho realizado pelos Profissionais.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A área dos Assuntos Regulamentares constitui uma das partes do Universo Farmacêutico, demonstrando assim, que o farmacêutico é um profissional com capacidade de adaptação incrível aos diferentes ramos, devido à sua formação polivalente, conseguindo inserir-se em diversos setores que não se cinjam somente a medicamentos.

Considero assim, o estágio na BasePoint, uma mais-valia pois permitiu-me adquirir diversas competências e aprofundar conhecimentos neste ramo. Apesar de ser uma empresa pequena, possui até à data uma enorme experiência e um *portfolio* de clientes bastante extenso. Sinto que foi uma experiência extremamente enriquecedora, proporcionando-me ferramentas e métodos de trabalho que serão certamente importantes na minha carreira profissional.

Um agradecimento especial à Equipa da BasePoint, nomeadamente ao Dr. David, à Dra. Carmen e à Dra. Beatriz, que me auxiliaram e guiaram o longo do período de estágio, demonstrando-se sempre disponíveis para ajudar e esclarecer as dúvidas que iam surgindo. Uma equipa motivada e organizada que me proporcionou um ambiente de trabalho incrível, sempre cheio de boa disposição.

CAPÍTULO III

MONOGRAFIA

“O PAPEL DO ZINCO NA DOENÇA DE ALZHEIMER”

ABREVIATURAS

8-HQ – 8-hydroxicolina

AChE – Acetilcolinesterase

AMF – Aminofenol

ApoE – Apolipoproteína E

BDNF – *Brain Derived Neurotrophic Factor*

BHE – Barreira Hematoencefálica

CQ – Clioquinol

Cu – Cobre

Cys – Cisteína (do inglês *Cysteine*)

DA – Doença de Alzheimer

Egr-1 – *Early growth factor 1*

Fe – Ferro

GWAS – *Genome Wide Association Studies*

His – Histidina

HPCIH – *pyridine-2-carboxaldehyde isonicotinoyl hydrazone*

MAP – Proteína Associada aos Microtúbulos (do inglês *Microtubule-associated Protein*)

MMP – Metaloproteinase da Matriz

MPACs – Compostos Atenuadores da interação Proteína-Metal (do inglês *Metal Protein Attenuating Compounds*)

MTs – Metalotioneínas

NF-κB – *Nuclear Factor-κB*

NFTs – *Neurofibrillary Tangles*

NMDA – N-metil D-Aspartato

PI3K – 3- fosfatidilinositol/proteína cinase (do inglês *Phosphoinositide 3-kinase*)

PK – Proteína Cinase (do inglês *Protein Kinase*)

PPA – Proteína Percursora Amiloide

RE – Retículo Endoplasmático

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

ROS – Espécies Reativas de Oxigénio (do inglês *Reactive Oxygen Species*)
SO – Stress Oxidativo

Sp1 – *Specificity protein 1*

ZF – *Zinc Finger*

ZFP – *Zinc Finger Proteins*

ZIP – *Zrt-/Irt-like Protein*

Zn – Zinco

ZnT – *Zinc Transporter*

β A – Beta-Amiloides

RESUMO

A Doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa progressiva, multifatorial, ligada ao déficit cognitivo, perda de memória e coordenação motora, constituindo uma das principais causas de demência na população mais idosa.

A etiologia da doença não é totalmente conhecida, motivo pelo qual vários estudos têm sido elaborados nos últimos anos, na sua gênese podem estar associados diversos fatores como ambientais ou genéticos. A fisiopatologia da mesma pode ser correlacionada com a formação de placas β -Amiloides, a hiperfosforilação da proteína Tau, a não existência de homeostase dos iões metálicos presentes no nosso organismo, entre outras.

Os metais apresentam um papel fulcral no nosso organismo, no crescimento e no desenvolvimento humano. Mais concretamente, o Zinco, um metal de transição com impacto nas mais diversas funções ao nível do organismo humano, que desempenha um papel fundamental no metabolismo, na diferenciação e crescimento celular, sendo crucial na síntese de proteínas, recetores e hormonas. O Zinco é o segundo elemento mais abundante no Sistema Nervoso Central e a sua homeostase é de extrema importância para um bom desempenho e funcionamento neural deste sistema. Quando o equilíbrio dos iões se encontra alterado, pode estar associado a alguns dos biomarcadores da Doença de Alzheimer. O estudo e pesquisa de novas terapias para a Doença de Alzheimer é constante, e quem sabe uma oportunidade para elevar as terapias associadas ao Zinco.

A presente monografia tem como principal objetivo elucidar acerca dos diferentes papéis do Zinco na Doença de Alzheimer, desde a sua fisiopatologia, ao seu tratamento.

Palavras-chave: Zinco; Doença de Alzheimer; Agentes Quelantes; β -Amiloide.

ABSTRACT

Alzheimer's disease is a progressive, multifactorial neurodegenerative disease associated with cognitive impairment, memory loss and motor coordination, and it's one of the main causes of dementia in the older population.

Since the etiology of the disease is not fully known and lately it has been the subject of many studies in recent years, however, several environmental or genetic factors may be associated with its genesis. Its pathophysiology may be correlated with the formation of β -amyloid plaques, the hyperphosphorylation of Tau protein, the non-existence of metal ion homeostasis in our body, among others.

Metals play a central role in our body, in human growth and development. More specifically, Zinc, a transition metal that impacts the most diverse functions in the human body, plays a key role in metabolism, differentiation, and cell growth, and is crucial in the synthesis of proteins, receptors and hormones. Zinc is the second most abundant element in the Central Nervous System and its homeostasis is extremely important for a good performance and neural functioning of this system. When it is altered, it may be associated with some of the biomarkers of Alzheimer's disease. The study and research of new therapies for Alzheimer's disease is constant, and perhaps an opportunity for therapies associated with zinc.

The main objective of this thesis is to elucidate about the different roles of the Zinc in Alzheimer's disease, from the pathophysiology to treatment.

Key words: Zinc; Alzheimer's disease; Chelator; β -amyloid.

I. DOENÇA DE ALZHEIMER

A Doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa multifatorial⁶ progressiva⁷, que representa uma das formas mais comuns de Demência⁸ e é associada à perda de memória e ao défice cognitivo.⁷ Esta desordem afeta mais de um terço da população acima dos 85 anos, com uma incidência superior nesta faixa etária. Cerca de 95% dos casos não são considerados hereditários, sendo assim classificados como esporádicos. A acumulação de placas β -Amiloides (β A) fora das células do sistema nervoso, a fosforilação da proteína Tau e os depósitos de *Neurofibrillary Tangles* (NFTs) no interior dos neurónios constituem elementos patognomónicos da DA, permitindo um diagnóstico mais eficaz⁶. Para além dos mecanismos ligados à cascata das placas β A e o aumento da fosforilação da proteína Tau, a DA pode estar relacionada com fatores genéticos ou ambientais, sendo que a sua etiologia ainda não é totalmente conhecida.⁹

PROGRESSÃO DA DOENÇA DE ALZHEIMER

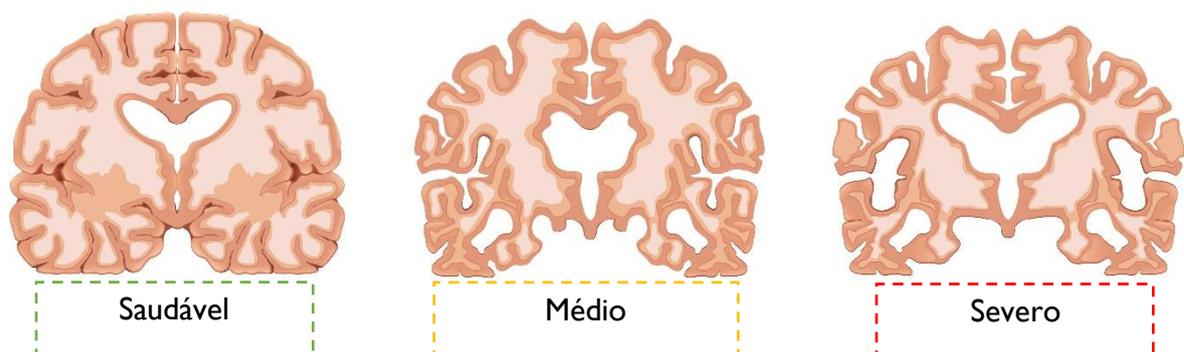


Figura 1 – A Doença de Alzheimer é caracterizada pela perda progressiva de memória, devido à degeneração de neurónios associados à capacidade cognitiva do hipocampo e córtex.¹⁰

Numa primeira fase da doença, os doentes apresentam sintomas como a amnésia, o que indica o comprometimento cognitivo leve. Em estados mais avançados é possível observar o decréscimo da capacidade cognitiva e motora.¹¹

A este distúrbio neurológico associa-se a acumulação extracelular de placas amiloides ricas em peptídeos β A e a deposição intracelular de NFTs com a proteína Tau hiperfosforilada, sendo estes os principais marcadores da doença. Os agregados de placas β A podem formar complexos com metais ativos, nomeadamente com o Zn, este metal interage com a proteína β A, agravando a acumulação das placas senis. A fosforilação da proteína Tau poderá também estar associada aos metais, quando em contacto com o Zn poderá haver um aumento da contribuição da formação de NFTs.¹⁰

2. FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER

2.1. Colinérgica

A Sinalização Colinérgica é dependente da síntese e da libertação de um neurotransmissor, a acetilcolina,¹² que é produzida nos neurónios colinérgicos do hipocampo e córtex. Na DA, a captação de acetilcolina por parte dos neurónios colinérgicos sofre uma diminuição, bem como a sua libertação.¹¹ A maioria das regiões do cérebro que são enervadas por neurónios colinérgicos desempenham um papel crucial na aprendizagem, memória, resposta ao stress e funções cognitivas. A degeneração destes neurónios é considerada um fator para o desenvolvimento da demência.¹²

2.2. Placas β -amiloides

A Proteína Precursora Amiloide (PPA) localizada na membrana neuronal é essencial para o crescimento e reparação neuronal.¹¹ Existem dois processos de catabolismo para a PPA, um amiloidogénico e outro não amiloidogénico.⁶ Na via amiloidogénica, a β -Secretase e γ -Secretase clivam a PPA em fragmentos, produzindo assim proteínas monoméricas β A, compostas por 36 a 43 aminoácidos. A proteína β A decompõe-se no cérebro através da fagocitose e da internalização mediada por recetores nas células da microglia e astrócitos, respetivamente. Na DA, existe um aumento na produção da proteína β A e uma diminuição do seu catabolismo. Na junção sináptica neural, o excesso de peptídeos β A leva à agregação dos monómeros, formando as placas β A, que podem bloquear os neurotransmissores e consequentemente a comunicação neural.¹¹

2.3. Proteína Tau

A proteína Tau é uma proteína associada aos microtúbulos, bastante abundante no SNC e tem como principal função a manutenção da estabilidade dos microtúbulos nos Axónios.¹³

A agregação anormal da proteína Tau (τ) induz a inflamação das células nervosas.¹¹ Esta proteína está associada aos microtúbulos (MAP) e é codificada pelo gene ligado à proteína Tau.¹⁴ Dentro dos neurónios, os microtúbulos unem-se permitindo assim o transporte de compostos celulares do Soma para o Axónio e vice-versa. O transporte do Soma para o terminal do Axónio é conhecido como anterógrado, e o transporte do Axónio para o terminal do Soma é conhecido como transporte retrógrado. A proteína Tau é

essencial na estabilização dos microtúbulos constituintes desta via celular. Na DA, a proteína β A ativa uma Proteína Cinase (PK) intracelular que fosforila a proteína Tau.¹¹ A hiperfosforilação desta proteína tem um papel preponderante na degeneração neurofibrilar¹⁴, fazendo com que esta se separe dos microtúbulos, agregando-se e formando os NFTs ou emaranhados. Consequentemente os microtúbulos destabilizam as proteínas e impossibilitam o transporte celular. A disfunção e morte celular levam à formação de placas senis capazes de bloquear a junção neuronal e os NFTs interrompem o transporte celular.¹¹ Os NFTs podem provocar uma diminuição da função da proteína Tau, comprometendo o normal funcionamento das funções das células e da regulação mediada pela proteína Tau na dinâmica dos microtúbulos, resultando, por fim, na neurodegeneração.¹⁴

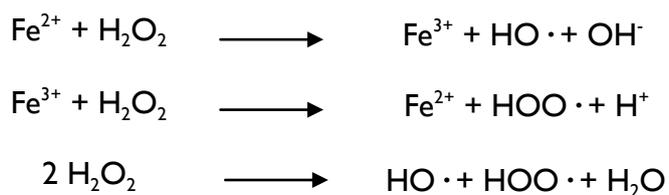
2.4. Apolipoproteína E

A Apolipoproteína E (ApoE) apresenta três isoformas, nomeadamente ApoE- ϵ 2, ApoE- ϵ 3 e ApoE- ϵ 4, estas desempenham um papel fundamental na fisiopatologia da DA. A ApoE- ϵ 4 é um fator de risco genético importante para o surgimento tardio da doença.¹⁵ De acordo com os GWAS (*Genome Wide Association Studies*), existem pelo menos 20 genes que contribuem para a evolução e desencadeamento da DA. As isoformas da ApoE conseguem regular a agregação das placas β A, regulação do metabolismo da glicose, sinalização neuronal¹⁴, influenciando, ainda, a biogénese e dinâmica mitocondrial.¹⁵ Permitem regular a integridade das *Tight Junctions* sendo que o défice da Apo E pode levar à dispersão de substância da BHE.¹⁴ Os estudos realizados por Yin *et al.*, 2020 sugerem que a ApoE- ϵ 4 poderá interferir com a plasticidade sináptica através da regulação das proteínas funcionais mitocondriais. O aperfeiçoamento da função mitocondrial poderá proteger a plasticidade sináptica, bem como a capacidade cognitiva.¹⁵

2.5. Metais

Na DA, a alteração na homeostase, bem como a sinalização de metais, pode levar ao desencadear da doença.¹⁶ Uma das principais causas da disfunção a nível neurológico é o aumento do Stress Oxidativo (SO), provocado pela peroxidação lipídica indireta, modificação direta das cadeias de proteínas por parte das Espécies Reativas de Oxigénio (ROS) ou Nitrogénio (RNS). O SO aumentado na DA deve-se à formação de radicais livres por meio da reação de fenton na presença de metais redox ativos.¹¹ O SO e a disfunção mitocondrial podem estar envolvidos no desenvolvimento da doença.¹⁷

REAÇÃO DE FENTON



Os íons de Zinco (Zn), Cobre (Cu) e Ferro (Fe) são os biometais mais conhecidos por formar complexos com as placas senis, compostas por proteínas β A, em doentes com DA.¹⁶ Quando estes elementos se encontram em elevadas concentrações, e o SO se encontra aumentado, podem desencadear eventos associados a esta patologia.¹⁸ Muitos estudos indicam que existe uma correlação entre a homeostase dos íons e os distúrbios neurodegenerativos, como por exemplo a interação do Zn e o Cu com as placas B-amiloides na DA,¹⁹ ou outras causas de demência como a Doença de Parkinson poderão estar associadas a altos níveis de Fe.²⁰

3. ZINCO

O Zinco (Zn) é um metal de transição que possui importantes propriedades químicas e biológicas,¹¹ desempenhando um papel de extrema importância no crescimento humano, durante a gravidez, infância e adolescência.²¹ O Zn apresenta também a capacidade de formar complexos com matéria orgânica, influenciando as estruturas tridimensionais dos ácidos nucleicos, a sinalização intracelular e as reações catalíticas enzimáticas.¹¹ Existem múltiplos reservatórios de Zn no nosso organismo tais como o músculo-esquelético, o osso, o fígado e o cérebro.⁹ O Zn é considerado um elemento essencial para a espermatogênese e a sua maturação, a integridade genômica do esperma, a organogênese, o desenvolvimento adequado do Timo e o normal funcionamento dos neurotransmissores. Este metal desempenha funções importantes a nível das células e tecidos dependentes, bem como em metaloproteínas associadas ao sistema dérmico, nervoso e imune.²¹

A absorção do Zn administrado oralmente ocorre no intestino delgado, principalmente a nível do jejuno, quando a ingestão deste é superior à esperada as metalotioneínas (MTs) intestinais são ativadas. As MTs são proteínas intracelulares ricas em cisteína com capacidade de sequestrar iões.⁹

O Zn é o segundo elemento mais abundante no Sistema Nervoso Central (SNC)⁶, encontrando-se fortemente ligado a proteínas e enzimas presentes em todo o organismo⁸. 30% circula ligado à α 2-macroglobulina e 70% a albumina e outras proteínas, peptídeos e aminoácidos.⁹ Este ião exerce um papel fundamental no metabolismo, diferenciação e crescimento celular, sendo crucial na síntese de proteínas, recetores e hormonas.¹¹ No cérebro existem três *pools* (ou tipos) de Zn, ou seja, o Zn vesicular, o Zn ligado a proteínas e o Zn livre.¹⁰ No SNC, o Zn, pode ser encontrado no citoplasma, no fluido extracelular e nas vesículas pré-sinápticas. No espaço intracelular, o Zn pode encontrar-se na mitocôndria, Reticulo Endoplasmático (RE) e Complexo de Golgi.⁶

3.1. Metabolismo do Zinco

O metabolismo do Zn é controlado por transportadores, que o mobilizam através da membrana para o citoplasma ou organelos, mantendo a homeostase deste metal a nível celular e sistémico. Existem duas famílias de transportadores de Zn, a família ZnT (SLC30) e a família ZIP (SLC39). Os transportadores expressos mais conhecidos no cérebro de mamíferos, são: ZnT1, ZnT3, ZnT10, ZIP1 e ZIP6.¹⁰ Em geral os transportadores ZnTs

executam a remoção o Zn^{2+} do citoplasma e os transportadores ZIPs fazem a importação para o citoplasma.²²

3.2. Homeostase do Zinco

O mecanismo de homeostase do Zn é complexo. O equilíbrio endógeno de zinco é promovido por proteínas de ligação (metalotioneínas, MTs) e transportadores de zinco.¹⁰ As MT são uma superfamília heterogénea de proteínas, que desempenham papéis no transporte, homeostase e desintoxicação de metais pesados, sendo induzidas pelos mesmos.²³ Existem quatro MTs em células humanas e de mamíferos: MT-1, MT-2, MT-3 e MT-4, que podem ligar até sete metais divalentes, incluindo o Zn. MT-1 e MT-2 são amplamente expressos, MT-3 é abundante no cérebro e MT-4 é expresso em algumas células epiteliais. Quando o Zn está em excesso, as MTs sequestram o seu excesso, protegendo assim as células da toxicidade deste metal.¹⁰

Tabela III – Famílias de transportadores de Zinco.¹⁰

Famílias de Transportadores de Zinco	
Família SLC30	Família SLC39
ZnT	ZIP
ZnT1, ZnT3 e ZnT10 (ZnTs1 – 10)	ZIP1, ZIP 3, ZIP 4, ZIP6, ZIP 9 e ZIP 13 (ZIPs1 - 14)
Transportadores de Zn que libertam o metal do citoplasma para os organelos celulares, resultando na redução da concentração de Zn no citoplasma.	Transportadores de Zn que aumentam o nível de Zn intracelular movendo-o para o citoplasma, seja dos organelos ou do espaço extracelular.
ZnT1 – encontra-se na membrana plasmática e é expresso de forma ubíqua, nos murganhos, o ZnT1 é altamente expresso em ramificações dendríticas e membranas sinápticas. Além disso, ZnT1 interage com recetores NMDA contendo GluN2A, formando complexos GluN2A / ZnT1. Assim, além de exportar Zn para o espaço extracelular, o ZnT1 desempenha um papel importante na modulação dos recetores pós-sinápticos.	ZIP1 – é abundante em algumas áreas do cérebro, nomeadamente nas células da glia, responsável pela captação de Zn nos astrócitos e células da microglia. As células da microglia são as células do sistema imunitário residentes no cérebro. O Zn é essencial para a ativação microglial induzida por isquémia, através da ativação sequencial da NADPH oxidase, ADP ribose e Polimerase I.
ZnT3 – expresso no cérebro, regulador da cognição e da aprendizagem, localiza-se na membrana vesicular sináptica. Recetor abundante no hipocampo e no córtex. O Zn é quase indetetável nas vesículas sinápticas, sugerindo que o ZnT3 executa o transporte de zinco para as vesículas.	ZIP3 – expresso no cérebro e fortemente expresso nos testículos e células mamárias. Este transportador é abundante nos neurónios piramidais do hipocampo e pode atenuar a degeneração da CA1 induzida por convulsões.
ZnT4 – inicialmente considerado como o gene vital envolvido no leite, posteriormente detetado em abundância no cérebro e nas glândulas mamárias, nos compartimentos endossomal e lisossomal, com baixa expressão noutros tecidos. Pode facilitar a entrada de zinco nas vesículas secretoras.	ZIP4 – é amplamente expresso nos tecidos humanos, como no intestino delgado, estômago e rins, desempenha um papel fundamental na absorção do Zn.
ZnT5 e ZnT6 – restritos à membrana de Golgi em células de mamíferos, incluindo neurónios.	ZIP6 – é amplamente expresso e está localizado na membrana plasmática, no cérebro, este pode ser encontrado no hipocampo e na membrana apical do plexo coróide. Quando existe um défice de Zn, o nível de mRNA de ZIP6 aumenta no cérebro.
ZnT10 – é um fator crucial no desenvolvimento fetal e está associado à doença de alzheimer	ZIP9 e ZIP13 – há alguns estudos que demonstram que existem no cérebro, em que o ZIP9 foi caracterizado como regulador da homeostase do Zn na via secretora e o ZIP13.

3.3. Fisiopatologia da Doença de Alzheimer e o Zinco

A deposição das placas β A e a desfosforilação da proteína Tau são dos dois biomarcadores mais significativos, sob quais o Zn apresenta um papel fulcral. Alguns estudos demonstraram que as alterações da homeostase do Zn interferem nestes biomarcadores, bem como noutros processos celulares. Na DA, os níveis de Zn sofrem alterações não apenas no SNC, mas também no soro e no plasma. A maioria dos estudos revelam que a concentração de Zn diminui no soro de doentes com esta patologia, bem como em ratinhos.⁶ A diminuição dos níveis de recetores ZnT3 provoca uma diminuição da regulação do Zn sináptico, gerando um comportamento depressivo. Sendo a depressão um dos principais fatores da demência, esta alteração fisiológica poderá estar associada à fisiopatologia da DA.²²

3.3.1. O Zinco e a Proteína Precursora Amiloide

O Zn tem a capacidade de modelar a função da Proteína Precursora Amiloide (PPA) e a sua degradação. Existem dois processos de catabolismo para a PPA, um amiloidogénico e outro não amiloidogénico, isto é onde esta proteína é digerida pela β -secretase e γ -secretase.⁶ Este metal de transição interfere com o processo da PPA, as enzimas relacionadas com a mesma, nomeadamente ADAM10, BACE1 e PS1, e os fragmentos de clivagem sPPA α , sPPA β , C83 e C99.²⁴

Os fatores de transcrição NF-kB, p53 e *Specificity protein 1* (Sp1) contêm Zn e regulam a síntese de PPA. O aumento de Zn diminui significativamente o nível de expressão da α -secretase, contrariamente à β -secretase que sofre um aumento em células SHAY-5y transgênicas, num estudo efetuado em ratinhos, indicando que o aumento de concentração de Zn pode induzir a via amiloide. Para além de influenciar as vias de expressão e as proteases, a PPA apresenta vários locais de ligação do Zn, a ligação deste induz mudanças de conformidades afetando a eficiência enzimática das secretases, este metal liga-se aos locais H677/H684/H685 da PPA não processada e induz a dimerização da PPA-C99, impedindo assim a produção de placas β A e a γ -clivagem.⁶

3.3.2. O Zinco e o Peptídeo β A

O peptídeo β A é o principal componente das placas β A insolúveis, na formação de agregados, este passa por um processo de transição, da forma considerada normal para a patogénica, que forma os agregados insolúveis.²⁵ O peptídeo β A₄₂ é o componente principal

que constitui os agregados extracelulares²⁵ e é composto por 42 resíduos de aminoácidos, constituído por uma porção hidrofílica N-terminal, posições 1 – 16, com potencial ligante nestas posições para diferentes iões metálicos. O Zn interage principalmente com resíduos de histidina no terminal N dos peptídeos βA_{42} ,⁶ a substituição destes resíduos, nas posições 13 ou 14, provocou várias alterações no desdobraimento da proteína βA , quando em contacto com o Zn.²⁵ No entanto, os locais mais propensos para esta ligação deste ião metálico são o H6, E11 e H 13.⁶

3.3.3. O Zinco e a Proteína Tau

A hiperfosforilação da proteína Tau e a formação de NFTs são alguns dos marcadores da DA.⁶ A proteína Tau é uma proteína associada aos microtúbulos, onde se liga e promove a sua agregação²⁶, sendo esta exacerbada em concentrações elevadas de Zn em células SH-SY5Y dependentes de Cys-291 e Cys-322.²⁷ O Zn exerce alguns efeitos na agregação do complexo Tau -R3 e consequentemente na sua toxicidade, acelerando o processo e promovendo a formação de oligómeros de menores dimensões. Os agregados de Tau-R3-Zn²⁺, em comparação com os Tau-R3, demonstram uma maior toxicidade nas células N2A, induzindo o SO.²⁶ Este metal de transição também pode provocar a inativação da proteína fosfatase 2A e a hiperfosforilação da proteína Tau através de uma via dependente de Src.⁶

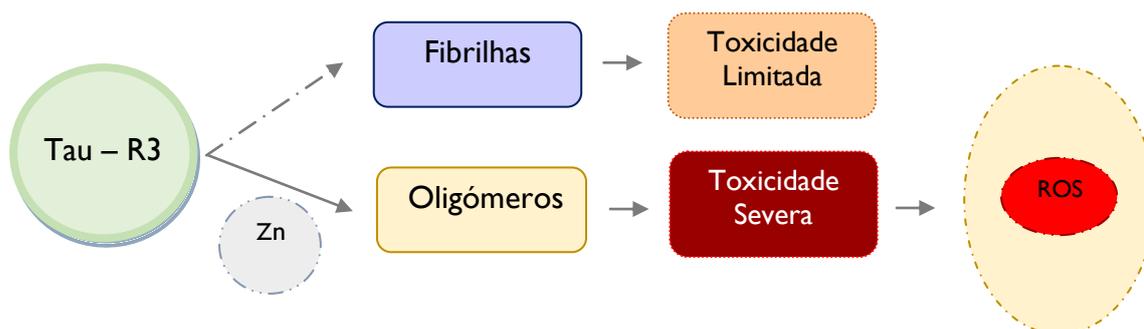


Figura 2 – Toxicidade induzida nas células na agregação da Tau-R3 na presença de Zinco.

3.3.4. O Zinco na Autofagia

O Zn tem propriedades protetoras a nível da autofagia¹¹ e é conhecido pela sua importância na regulação da apoptose e ciclo celular.²⁸ O SO a nível dos astrócitos ativa a p38, promovendo a fosforilação, levando à degradação da mTOR e consequentemente à autofagia.¹¹ O Zn atua como inibidor no mecanismo de ativação da ERK, que por sua vez

induz a fosforilação da Beclin1-PI3K envolvida no processo de autofagia. A ativação destas quinases leva a uma instabilidade dos microtúbulos e consequentemente a placas e NFTs.²⁸

3.3.5. O Zinco e os *Brain Derived Neurotrophic Factor*

A manutenção de *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) é essencial nos neurónios corticais adultos presentes no córtex entorrinal, quando ocorre uma disfunção precoce dos mesmos provocam a perda de memória a curto-prazo na DA.²⁹ O nível elevado de expressão de BDNF, bem como as elevadas concentrações séricas do mesmo contribuem para um menor risco de demência em indivíduos de idade mais avançada. A forma inicial é clivada em pro-BDNF, e posteriormente, clivado em mBDNF, ER e corpos trans-Golgi. As proteases responsáveis pela clivagem das diferentes formas da BDNF incluem plasmina e metaloproteinases, nomeadamente Metaloproteinases da Matriz (MMPs), MMP-2 e 9.

As MMPs são um grupo de endopeptidases dependentes de Zn, que promovem a maturação do pro-BDNF por meio da ativação de as MMPs. A MMP-9 requer de Zn para a sua atividade proteolítica, quando sobre expressa, os níveis séricos de mBDNF aumentam, evitando o comprometimento cognitivo.⁶

3.3.6. *Zinc Finger Proteins*

As *Zinc Finger Proteins* (ZFP) são constituídas por pequenos domínios, onde o Zn é responsável pela manutenção estrutural de cisteínas ou um conjunto de cisteínas e histidinas numa geometria tetraédrica, podendo interagir com o DNA, RNA e proteínas.

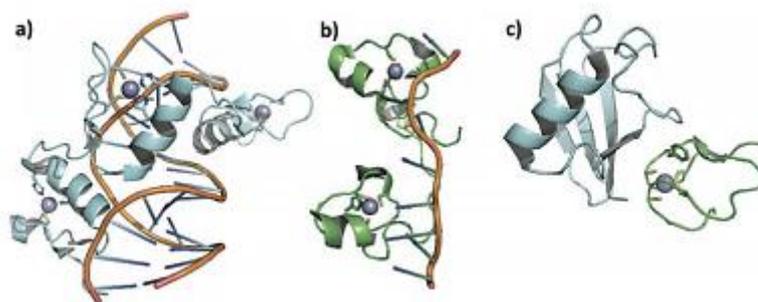


Figura 3 – Interação das ZFP com o DNA (a), RNA (b) e proteínas (c).³⁰

Os *Zinc Fingers* (ZFs) são classificados de acordo com o número e tipo de aminoácidos envolvidos na coordenação do Zn. Os ZFs clássicos são classificados como Cys₂His₂ (CCHH), Cys₃His (CCHC) e Cys₄ (CCCC). Algumas patologias, como por exemplo

a DA, estão correlacionadas à substituição do Zn nos ZFs. A substituição do Zn nestas proteínas pode ser a causa de múltiplos défices neurológicos, através de mecanismos de inibição dos ZFs.³⁰ A desregulação severa das ZFP, como a DNA metil-transferase I, SpI e *Early growth factor 1* (Egr-1), têm sido associadas à DA.³¹

4. A DEFICIÊNCIA DE ZINCO E A DOENÇA DE ALZHEIMER

Na DA, os níveis de Zn alteram-se tanto no SNC, como no soro e no plasma. A maioria dos estudos demonstram que a concentração de Zn diminui no soro de doentes com esta patologia, facto confirmado também em murganhos. Uma meta-análise verificou que os valores de Zn diminuíram significativamente em relação aos indivíduos saudáveis. A causa desta diminuição pode estar relacionada com a interação do Zn e as proteínas β A.⁹

A deficiência de Zinco e a depressão sérica ocorrem concomitantemente.⁶ No caso de doentes com depressão ocorre uma diminuição dos níveis de ZnT3, o que leva a uma diminuição da regulação sináptica.²² Ao longo dos tempos têm surgido evidências crescentes, de que a depressão e outras alterações de humor em adultos mais velhos com deficiência cognitiva leve e sem comprometimento cognitivo podem estar associados à DA e aos biomarcadores relacionados com os peptídeos β A. Além das alterações, a inflamação vascular e neuro inflamação, ocorrem no estado pré-clínico da DA.⁶

5. MOLÉCULAS DIRECIONADAS AO ZINCO

Os fármacos mais utilizados no tratamento da DA baseiam-se principalmente na regulação da NT colinérgica no cérebro, através da inibição da acetilcolinesterase (AChE). Alguns dos fármacos comercializados e utilizados na terapêutica desta doença neurodegenerativa são o donepezilo, a galantamina e a rivastigmina.³² Por norma os compostos que demonstram eficácia na terapêutica, são lipofílicos, isto é com baixa solubilidade em água.¹⁴ Com base nos estudos realizados com o Zn, existem duas estratégias para um tratamento específico, nomeadamente a suplementação e a quelação de Zn. Numa fase sintomática da doença, as estratégias terapêuticas passam pela quelação de Zn das placas e de locais onde este metal não exerce uma ação benéfica, transferindo estes iões metálicos para outros locais. Por outro lado, numa intervenção muito precoce da DA, pré-sintomática, a suplementação de pequenas quantidades poderá ser benéfica, podendo assim, prevenir o défice cognitivo dependente do hipocampo.³³

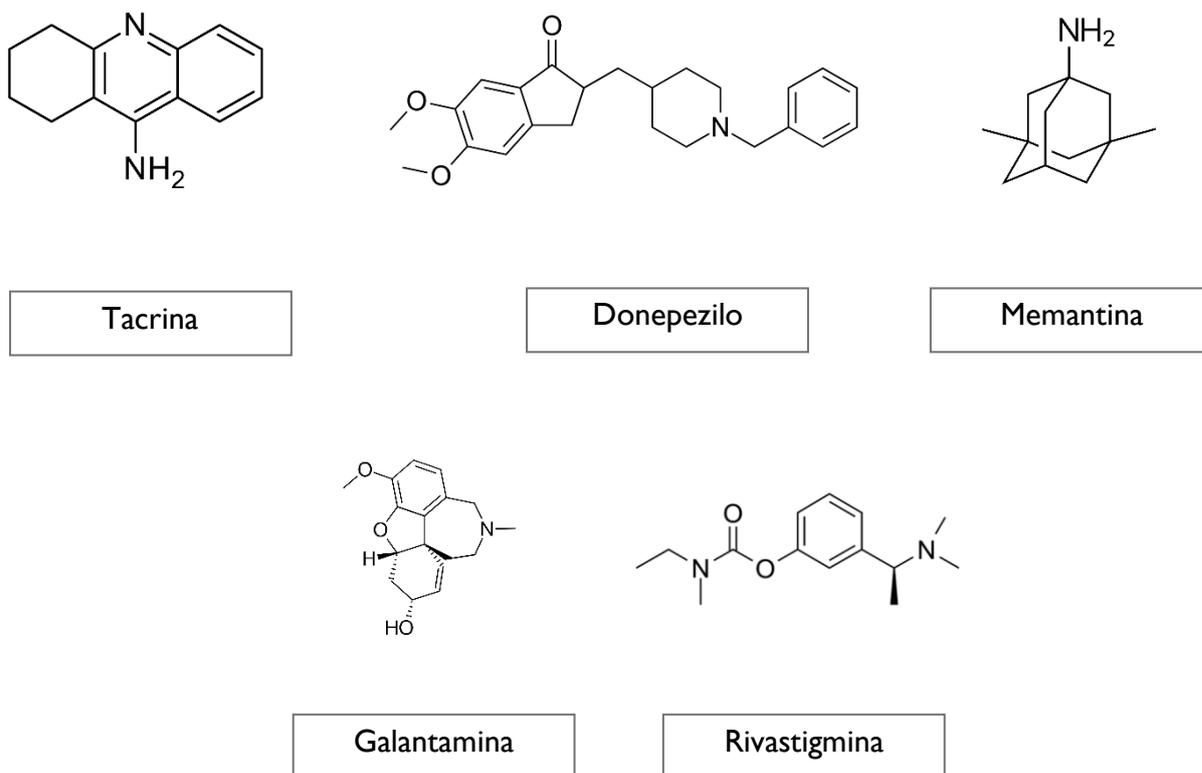


Figura 4 – Estruturas dos fármacos aprovados pela FDA, para o tratamento da DA.⁷

5.1. Agentes Quelantes

A perda de neurónios pode estar associada ao SO provocado pelo aumento da concentração de metais que têm capacidade de oxidação-redução ativa, sendo a homeostase dos iões uma estratégia terapêutica contra a DA.⁷ Os Agentes Quelantes oferecem proteção e conseguem restaurar a homeostase do Zn na DA,³⁴ estes ligam-se aos iões metálicos aumentando a sua excreção, provocando assim uma diminuição progressiva da concentração corporal deste elemento.²⁰ Embora o Zinco (tal como o Cobre e o Ferro) possa mediar a toxicidade induzida pelo SO na DA, a fisiopatologia da mesma pode não ser caracterizada pela alteração da homeostase dos iões de Zn. Neste sentido, uma estratégia terapêutica promissora para o tratamento da DA, não passará apenas pela redução da concentração dos metais livres a nível intracelular, mas também pelo desenvolvimento moléculas que inibam ou descoquem as lesões provocadas por metais, em zonas de acumulação dos metais.³⁴

A terapia com agentes quelantes requer compostos com características farmacodinâmicas e farmacocinéticas específicas, que dependem do próprio metal e do agente quelante em questão, como por exemplo o raio iónico, tamanho da esfera de solvatação, dureza, biodisponibilidade, entre outros. Além disso deve haver uma estabilidade termodinâmica e cinética dos compostos.²⁰

O fator limitante no desenvolvimento destes fármacos é o facto de serem considerados tóxicos por alguns autores. Recentemente surgiram novas oportunidades neste âmbito na tentativa de limitar os efeitos colaterais tóxicos em doenças neurodegenerativas. A maioria dos agentes quelantes usados atualmente na medicina, bem como no controlo e tratamento da DA, e outras doenças neurodegenerativas, têm efeitos colaterais leves ou graves. Algumas limitações relacionadas com estes fármacos são a redistribuição dos metais tóxicos, a perda de metais essenciais e a não remoção de metais tóxicos num determinado local, isto é a falta de especificidade.³⁴

5.1.1. Compostos Atenuadores da interação Proteína-Metal

A desregulação deste metal de transição tem sido alvo de novas terapêuticas para a patologia da DA. O uso de Compostos Atenuadores da interação Proteína-Metal (MPACs) fornecem uma gama complexa de opções,³⁴ estes devem ser capazes de restaurar a homeostase do Cu e Zn, atenuando as interações anormais com as proteínas locais em excesso, prevenindo assim a oligomerização e a toxicidade provocada pelas ROS.³⁵ Esta classe de compostos tem por base a molécula 8-hidroxicolina (8-HQ)³⁵ e possui uma afinidade moderada para iões metálicos.³⁴ A captação do Zn pode modelar positivamente no que conta à solubilização de placas amiloides, no entanto pode ter um impacto negativo na neurotransmissão, bem como no eixo neurotrófico.⁸ Um exemplo deste tipo de moléculas é a *pyridine-2-carboxaldehyde isonicotinoyl hydrazone* (HPCIH), uma aril-hidrazona, esta tem vindo a ser amplamente estudada como uma possível candidata ao tratamento da DA, visto que, *in vitro*, demonstrou-se capaz de competir com o peptídeo β A, pelo Zn^{2+} .³⁵

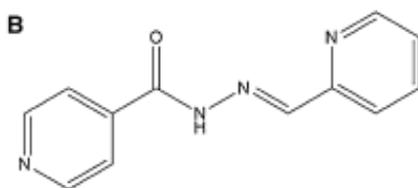


Figura 5 – Estrutura da HPCIH.

5.1.2. Clioquinol

O 5-cloro-7-iodo-quinolin-8-ol foi o primeiro agente quelante a ser explorado como opção terapêutica para doenças neurodegenerativas.³⁴ Inicialmente utilizado como desinfetante intestinal,³⁶ o Clioquinol (CQ) é um derivado da 8-hidroxiquinolina, classe de

compostos que apresenta estruturas com capacidade quelante, que podem vir a ser estudadas como fármacos no tratamento da DA. Este tipo de molécula tem a capacidade de atravessar a Barreira Hematoencefálica (BHE) e quelar o Cu e Zn,³⁴ os complexos com estes iões permitem diminuir a neurotoxicidade, devido à redução da produção de H₂O₂.³⁷ Este tipo de fármacos também permitem solubilizar as placas βA em doentes com DA, portanto são classificados como MPACs. No entanto, quando utilizado a longo prazo, existem evidências de que este fármaco tem efeitos colaterais deletérios.³⁴

Este agente quelante foi administrado em murganhos com dois meses e meio, durante duas semanas, onde provocou uma redução dos BDNF *in vivo*.⁶

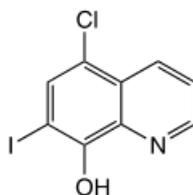


Figura 6 – Estrutura do 5-cloro-7-iodo-quinolin-8-ol.

5.1.3. PBT2

O PBT2 é caracterizado pela versatilidade elevada, e demonstrou propriedades mais promissoras relativamente à eficácia na remoção de iões de Zn e Cu, visto que tem a capacidade de se ligar a estes iões, aumentando assim a dissolução das placas βA.^{36,34, 38} Este composto tem a capacidade de inibir o Zn induzido e conseqüentemente diminuir a formação de agregados com as placas βA resistentes à protease.³⁸ Tanto o PBT2 como o CQ transportam Cu²⁺ e Zn²⁺ para as células,²³ este fármaco funciona como uma *chaperone* destes iões transportando-os de um local para outro onde exercerão uma atividade benéfica.³⁸ O PBT2 inicia cascatas de sinalização neuroprotetoras como a PI3K, e tem capacidade de regulação das metaloproteases.²³ Esta molécula tem uma grande afinidade para a proteína βA, no entanto o processo de produção em grande escala não é fácil.³⁴

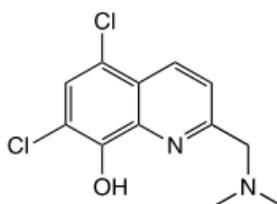


Figura 7 – Estrutura do PBT2.

5.1.4. Derivados de aminopiridina

Os análogos da 4-aminopiridina têm uma capacidade de inibição da atividade da acetilcolinesterase, com efeitos promissores na eliminação de disfunções relacionadas com a memória.³⁹ Vários compostos derivados da aminopiridina têm vindo a ser desenvolvidos devido à sua capacidade de interação com os metais.¹⁸ Os agentes quelantes derivados deste composto foram desenvolvidos a partir de cadeias básicas de CQ.³⁴ Estes compostos possuem a capacidade de se ligar a iões de Cu(II) e Zn(II), mais especificamente ao Cobre neste caso, e consequentemente diminuir a acumulação de placas β A induzida por metais, bem como o decréscimo da produção de ROS.¹⁸

5.1.5. Derivados de Aminofenol

Os derivados do Aminofenol (AMF) são pequenas moléculas, que são expectáveis que atravessem facilmente a BHE,¹⁸ que foram desenvolvidas em resposta às limitações e efeitos secundários dos fármacos derivados da 8-HQ, como o CQ.³⁴ Para além das suas propriedades quelantes e a sua grande afinidade para com as proteínas β A, estas apresentam uma capacidade antioxidante, devido ao seu grupo hidroxilo fenólico.¹⁸

Os mecanismos dos derivados de AMF podem ser multidirecionais e têm capacidade de diminuir a agregação dos metais e a formação de placas. A modulação estrutural adicional das moléculas de compostos derivados de AMF pode fornecer mais informações sobre os acessos direcionados e multidirecionais ligados à neurodegeneração e aos metais na DA.³⁴

Alguns dos compostos analisados e discutidos foram derivados à base de tioflavina, de resveratrol, cumarina, aminas fenólicas e benzotiazol, compostos que modulam o Zn e o Cu na agregação da proteína β A, e que indiretamente regulam o stress oxidativo. Os compostos à base de tioflavinas, quando inseridos em análogos estruturais do benzoxazol, formam complexos que possuem alta afinidade para o Zn. O resveratrol quando modificado com substituintes hidroxilo, desenvolvem uma maior potência de quelação e ação antioxidante.³⁴

5.1.6. Derivados de flavonóides

Os flavonóides são constituintes fitoquímicos de origem vegetal, que foram amplamente estudados e demonstraram possuir várias propriedades importantes.³⁴ De salientar a atividade inibitória da AChE, a inibição da formação de placas senis, a eliminação de radicais livres e a capacidade quelante de metais.⁴⁰ Outras funções, igualmente importantes, desempenhadas por estes compostos são as suas capacidades neuroprotetoras e anti-inflamatórias.³⁴ Tornando-se assim, a síntese e o *design* de novos derivados flavonoides

eficazes, uma estratégia interessante na pesquisa de fármacos para o tratamento da DA, principalmente em inibidores da AChE.⁴⁰

5.2. Derivados de Emodina

A Emodina (1,3,8-trihidroroxi-6-metilntraquinona) é uma antraquinona, que existe em muitos tratamentos à base de plantas característicos da medicina tradicional chinesa,³² esta apresenta propriedades antioxidantes, anti tumorais e protetoras dos nervos.⁴¹ Algumas plantas utilizadas são *Rhubarb*, *Polygonum cuspidate*, *Fallopia multiflora*, *Cassia seed*, entre outras. O desenvolvimento de fármacos através de modificações estruturais em compostos naturais é um dos principais focos nas pesquisas atuais. Estudos recentes demonstraram que este composto e os seus derivados têm uma boa capacidade antioxidante e propriedades neuroprotetoras, podendo ser usadas no tratamento de doenças neurodegenerativas como a DA.³²

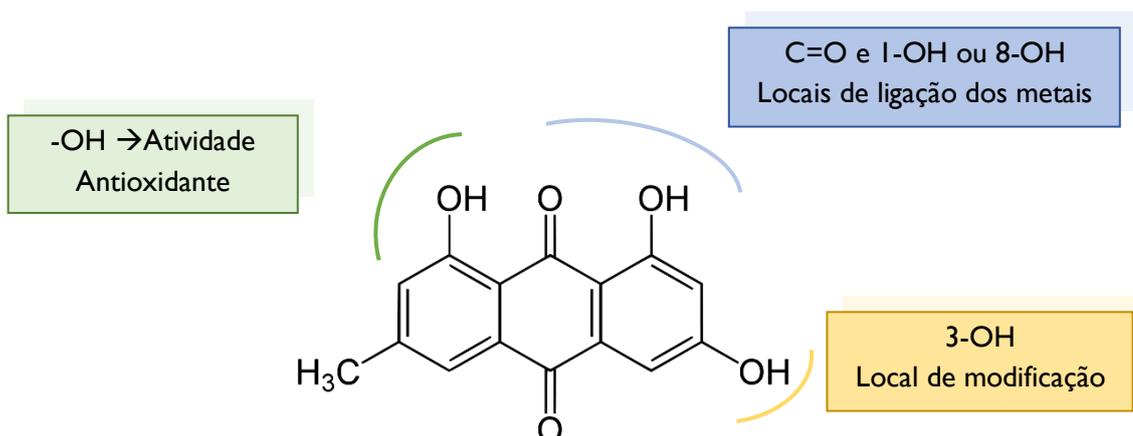


Figura 8 – Estratégias de design de derivados da Emodina, onde podem apresentar atividades multifatoriais como função antioxidantes, capacidade de captar metais e inibição da AChE, esta última através da modificação do local 3-OH com grupos catiónicos.

Existem alguns derivados que têm vindo a ser estudados, apostando nas suas propriedades anticolinérgicas, antioxidantes e quelantes de metais. A estratégia de design destes fármacos é com base, por exemplo, no grupo da amina terciária, que apresenta propriedades inibitórias da AChE. O grupo polifenol estabelece a base para a captação dos metais e a capacidade antioxidante.

A capacidade antioxidante da Emodina, dos seus derivados e dos complexos metálicos foi avaliada, constituindo a Vitamina C o fármaco de referência. A atividade antioxidantes do radical hidroxilo foi determinada através da reação de Fenton e a do radical superóxido através da auto oxidação de pirogallol. A Emodina demonstrou uma capacidade

de eliminação de $\cdot\text{OH}$ superior à Vitamina C, este mecanismo baseia-se na estabilidade do radical livre fenóxido, através da captação de H. O radical livre fenóxido é mais estável do que o formado com a Vitamina C, o alcóxido, a Emodina e os seus derivados demonstraram uma maior capacidade de eliminação de radicais OH através de métodos incluindo radicais livres como $\cdot\text{O}_2^-$ e $\cdot\text{OH}$.³²

Este composto diminui a neurotoxicidade dependente do Zn nos neuroblastomas SH-SY5Y,²³ reduzindo a apoptose induzida por Zn^{2+} em excesso nestas células, através da supressão das ROS.⁴¹ A Emodina⁵² demonstrou eficácia na diminuição da formação de placas βA e da hiperfosforilação da proteína Tau.²³

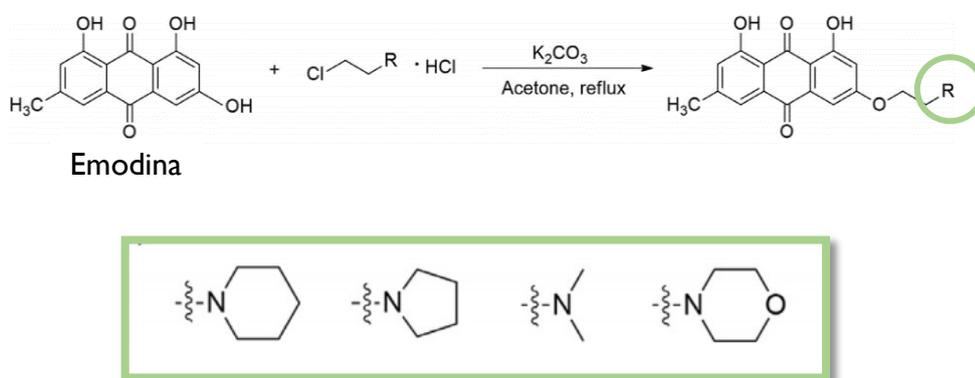


Figura 9 – Esquema de Síntese de derivados da Emodina.

Foi possível caracterizar e sintetizar quatro derivados da Emodina, através da reação indicada na Figura 2. Os resultados demonstraram que estes derivados possuem atividades multifatoriais anti-DA. Alguns têm uma forte capacidade inibitória da AChE, muito seletivos de AChE/BuChE. Os complexos metálicos do composto A demonstraram ainda maior seletividade e capacidade inibitória, tendo uma capacidade quelante dos iões de Zn. Hipoteticamente os derivados de Emodina poderão ser candidatos a terapias devido à sua seletividade, dado que têm uma menor probabilidade de causar efeitos secundários.³²

5.3. Complexos de Zinco e Selénio

O Selénio (Se) é um micronutriente essencial na dieta devido ao facto da necessidade da selenocisteína por parte de algumas selenoproteínas.⁴² Este elemento apresenta um conjunto de funções essenciais à vida, participa em processos enzimáticos e não enzimáticos, que influenciam fatores de transcrição, hormonas e sinais de transdução, participando na regulação antioxidante.⁴³ Fornece proteção contra os danos celulares provocados pelas ROS, graças às funções da glutathione peroxidase e da selenoproteína P.⁴²

A suplementação de Se pode ser benéfica em alguns grupos de doentes, aqueles que se encontram expostos a toxinas, aos predispostos a desenvolver a doença e aos que apresentem um déficit deste elemento.⁴³ O cérebro constitui o último órgão onde a deficiência de Se ocorre, no entanto quando ocorre a suplementação deste elemento é o primeiro local a atingir níveis adequados.⁴²

Estudos efetuados no âmbito na DA demonstraram que a disfunção mitocondrial e o SO podem ser fatores envolvidos no surgimento de desordens neuronais, como por exemplo a DA. Deste modo, terapias com base na potenciação das funções mitocondriais podem ser úteis na prevenção destas doenças. Compostos antioxidantes e mitocôndria-alvo, tais como o selênio, o Zn, carnitina, Vitamina C, Vitamina E, Coenzima Q10, entre outros, têm efeitos na DA. O tratamento concomitante em ratos com Zn e Se melhorou o desempenho dos testes realizados anteriormente com o mesmo objetivo, permitindo a diminuição dos danos da membrana mitocondrial, a qual é um fator importante na função mitocôndria. De salientar que o complexo de Zn e Se também permitiu o decréscimo dos níveis de ROS e de MDA mitocondrial. Podemos também observar um aumento da concentração de GSH, um antioxidante significativo na mitocôndria. O desenvolvimento de fármacos com estes metais poderá vir a ser uma possível terapia na otimização da função mitocondrial, e por sua vez eficaz no tratamento e prevenção da DA.¹⁷

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

A Doença de Alzheimer é uma das doenças mais comuns na sociedade de hoje, sendo a causa de 50 a 70% dos casos de demência na população mais idosa, não apresentando nenhum tipo de cura, apenas tratamentos que permitem atrasar a evolução da doença. Ao longo dos anos foi possível denotar uma evolução notória a nível do conhecimento da doença, no entanto ainda existe muito a explorar, desde a patogénese ao seu tratamento. Tendo por base o papel dos metais na DA, mais concretamente do Zinco, podemos observar que este desempenha diversas funções a nível do organismo humano, tendo um papel preponderante em diversos campos na fisiopatologia desta doença neurodegenerativa.

O excesso ou défice de Zn podem ter vantagens ou desvantagens para a atividade celular e diversos processos existentes no nosso organismo, sendo a sua homeostase crucial. Poderíamos afirmar que o Zn é um dos principais intervenientes na DA, no entanto esta doença pode ser despoletada por diversos fatores. Quando a DA está efetivamente relacionada com a não existência de homeostase do Zn, uma das primeiras questões que surge é como e quando se deve intervir. Na fase sintomática da DA, a terapêutica deve ser com base na quelação dos iões de Zn das placas β A, permitindo assim a diminuição da concentração deste ião. Por outro lado, se o diagnóstico for realizado precocemente, numa fase pré-sintomática, a suplementação diária de Zn poderá ser benéfica, prevenindo o desenvolvimento de défices cognitivos relacionados com o hipocampo.

Ao longo dos anos a tentativa de descoberta de novas terapias para a DA tem sido exaustiva. As estratégias farmacológicas e terapêuticas com base na quelação dos iões metálicos no Sistema Nervoso e a modulação da interação entre as placas β A e os iões poderá ser a solução para o tratamento de alguns doentes com esta patologia. A opção de tratamentos baseados com agentes quelantes, poderá a vir a ser também uma solução, caso seja possível eliminar o surgimento de efeitos colaterais, devido às diferentes funções do Zn no organismo humano.

O desenvolvimento de fármacos no âmbito da DA deve ter em consideração os mecanismos de permeação da BHE, bem como o conhecimento mais aprofundado da fisiopatologia da doença, duas particularidades que são grandes desafios nos dias de hoje. A otimização das moléculas e a escolha dos vetores de segmentação permitirão obter fármacos multifuncionais, que podem desempenhar um papel de extrema importância na terapia da DA. O desenvolvimento de fármacos com alta eficácia e efeitos colaterais mínimos poderá exigir um trabalho de uma equipa multidisciplinar.

7. BIBLIOGRAFIA

1. INFARMED - **Normas relativas à prescrição de medicamentos e produtos de saúde**. 3. (2014) 1–23.
2. INFARMED – **Resumo das Características do Medicamento**, Diclofenac Bluepharma, 10 mg/g, gel. [Acedido a 20 de julho de 2021]; Disponível em: https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml;jsessionid=2ZRafWPHJIWz1ulwr2jHh_6WdO_pTgwfXp3Peu6W.foI
3. UNIÃO EUROPEIA - **Regulamento (CE) N°1223/2009 Do Parlamento Europeu e do Conselho**. Jornal Oficial da União Europeia. (2009) 151.
4. MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Decreto-Lei n.º 189/2008, de 24 de setembro, que estabelece o regime jurídico dos produtos cosméticos e de higiene corporal**. Diário da República n.º 185/2008, Série I. (2008) 6826–6905.
5. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO MAR - **Decreto-Lei n.º 101/2005 de 23 de junho**. Diário da República. 1.ª série: N.º 120 (2015) 1346–1371.
6. XIE, Zhuoya; WU, Hongrong; ZHAO, Jianfeng - **Multifunctional roles of zinc in Alzheimer’s disease**. *NeuroToxicology*. (2020) 112–123.
7. DETURE, Michael A.; DICKSON, Dennis W. - **The neuropathological diagnosis of Alzheimer’s disease**. *Molecular Neurodegeneration*. (2019) 1–18.
8. SENSI, Stefano L. *et al.* - **Copper and Zinc Dysregulation in Alzheimer’s Disease**. *Trends in Pharmacological Sciences*. (2018) 1049–1063.
9. SQUITTI, Rosanna *et al.* - **Zinc therapy in early alzheimer’s disease: Safety and potential therapeutic efficacy**. *Biomolecules*. (2020) 1–17.
10. XU, Yingshuo *et al.* - **Zinc transporters in Alzheimer’s disease**. *Molecular Brain*. (2019) 1–12.
11. NARAYANAN, Siju Ellickal *et al.* - **Molecular mechanism of zinc neurotoxicity in Alzheimer’s disease**. *Environmental Science and Pollution Research*. (2020) 43542–43552.
12. BEKDASH, Rola A. - **The cholinergic system, the adrenergic system and the neuropathology of alzheimer’s disease**. *International Journal of Molecular Sciences*. (2021) 1–18.

13. MICHALICOVA, Alena; MAJEROVA, Petra; KOVAC, Andrej - **Tau Protein and Its Role in Blood–Brain Barrier Dysfunction.** *Frontiers in Molecular Neuroscience.* September (2020) 1–13.
14. WONG, Ka Hong *et al.* - **Review of current strategies for delivering Alzheimer’s disease drugs across the blood-brain barrier.** *International Journal of Molecular Sciences.* (2019).
15. YIN, Junxiang *et al.* - **Effect of ApoE isoforms on mitochondria in Alzheimer disease.** *Neurology.* (2020) e2404–e2411.
16. BENEDICTIS, Chiara A. DE; VILELLA, Antonietta; GRABRUCKER, Andreas M. - **The Role of Trace Metals in Alzheimer’s Disease.** *Alzheimer’s Disease.* (2019) 85–106.
17. FARBOOD, Yaghoob *et al.* - **Protective Effects of Co-administration of Zinc and Selenium Against Streptozotocin-Induced Alzheimer’s Disease: Behavioral, Mitochondrial Oxidative Stress, and GPR39 Expression Alterations in Rats.** *Neurotoxicity Research.* (2020) 398–407.
18. SANTOS, M. Amélia; CHAND, Karam; CHAVES, Silvia - **Recent progress in multifunctional metal chelators as potential drugs for Alzheimer’s disease.** *Coordination Chemistry Reviews.* 287–303.
19. VILES, John H. - **Metal ions and amyloid fiber formation in neurodegenerative diseases. Copper, zinc and iron in Alzheimer’s, Parkinson’s and prion diseases.** *Coordination Chemistry Reviews.* (2012) 2271–2284.
20. LEUCI, Rosalba *et al.* - **Importance of biometals as targets in medicinal chemistry: An overview about the role of zinc (II) chelating agents.** *PPA lied Sciences (Switzerland)* (2020).
21. ATTAR, Tarik - **A mini-review on importance and role of trace elements in the human organism.** *Chem Rev Lett.* (2020) 117–130.
22. WHITFIELD, David R. *et al.* - **Depression and synaptic zinc regulation in alzheimer disease, dementia with lewy bodies, and parkinson disease dementia.** *American Journal of Geriatric Psychiatry.* (2015) 141–148.
23. PRETSCH, Dagmar *et al.* - **Prolongation of metallothionein induction combats A β and α -synuclein toxicity in aged transgenic *Caenorhabditis elegans*.** *Scientific Reports.* (2020) 1–13.

24. WANG, Chun Yan *et al.* - **Zinc Overload Enhances PPA Cleavage and A β Deposition in the Alzheimer Mouse Brain.** *PLoS ONE*. (2010) 1–12.
25. YANG, Dun Sheng *et al.* - **Examining the zinc binding site of the amyloid- β peptide.** *European Journal of Biochemistry*. (2000) 6692–6698.
26. LI, Xuexia; DU, Xiubo; NI, Jiazuan - **Zn 2+ aggravates tau aggregation and neurotoxicity.** *International Journal of Molecular Sciences*. (2019) 1–16.
27. HU, Ji Ying *et al.* - **Pathological concentration of zinc dramatically accelerates abnormal aggregation of full-length human Tau and thereby significantly increases Tau toxicity in neuronal cells.** *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. (2017) 414–427.
28. QIAOYUN, Liu; HANMING, Shen; DAJING, Xia - Zinc and autophagy. **Zhejiang da xue xue bao. Yi xue ban = Journal of Zhejiang University. Medical sciences.** (2016) 308–314.
29. GIUFFRIDA, Maria Giuffrida; COPANI, Agata; RIZZARELLI, Enrico - **A promising connection between BDNF and Alzheimer's disease.** *AGING 2018, Vol. 10, No. 8* (2018) 1791–1792.
30. ABBEHAUSEN, C. - **Zinc finger domains as therapeutic targets for metal-based compounds-an update.** *Metallomics*. (2019) 15–28.
31. ORDEMANN, Jacqueline Michelle; AUSTIN, Rachel Narehood - **Lead neurotoxicity: Exploring the potential impact of lead substitution in zinc-finger proteins on mental health.** *Metallomics*. (2016) 579–588.
32. KOU, Xiaodi *et al.* - **Emodin derivatives with multi-factor anti-AD activities: AChE inhibitor, anti-oxidant and metal chelator.** *Journal of Molecular Structure*. (2021) 130459.
33. CORONA, C. *et al.* - **New therapeutic targets in Alzheimer's disease: Brain deregulation of calcium and zinc.** *Cell Death and Disease*. (2011) e176-111.
34. FASAE, Kehinde D. *et al.* - **Metallobiology and therapeutic chelation of biometals (copper, zinc and iron) in Alzheimer's disease: Limitations, and current and future perspectives.** *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. (2021) 126779.
35. CUKIERMAN, Daphne S. *et al.* - **Aroylhydrazones constitute a promising class of**

- 'metal-protein attenuating compounds' for the treatment of Alzheimer's disease: a proof-of-concept based on the study of the interactions between zinc(II) and pyridine-2-carboxaldehyde isonicotinoyl hydrazon.** *Journal of Biological Inorganic Chemistry.* (2018) 1227–1241.
36. MEUNIER, Bernard; NGUYEN, Michel; STIGLIANI, Jean-Luc - **Structures of copper- and zinc-complexes of PBT2, chelating agent evaluated as potential drug for neurodegenerative diseases.** *Eur. J. Inorg. Chem.* (2016) 1-22
37. VAIRA, Massimo DI *et al.* - **Clioquinol, a drug for Alzheimer's disease specifically interfering with brain metal metabolism: Structural characterization of its zinc(II) and copper(II) complexes.** *Inorganic Chemistry.* (2004) 3795–3797.
38. CROUCH, Peter J. *et al.* - **The Alzheimer's therapeutic PBT2 promotes amyloid- β degradation and GSK3 phosphorylation via a metal chaperone activity.** *Journal of Neurochemistry.* (2011) 220–230.
39. SINGH, Shashi Kant; SINHA, Saurabh Kumar; SHIRSAT, Mrunal Krishnarao - **Design, synthesis and evaluation of 4-aminopyridine analogues as cholinesterase inhibitors for management of alzheimer's diseases.** *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research.* (2018) 644–654.
40. LI, Ren Shi *et al.* - **Design, synthesis and evaluation of flavonoid derivatives as potential multifunctional acetylcholinesterase inhibitors against Alzheimer's disease.** *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.* (2013) 2636–2641.
41. LIU, Wenzhou *et al.* - **Emodin inhibits zinc-induced neurotoxicity in neuroblastoma SH-SY5Y cells.** *Bioscience Reports.* (2019) 1–9.
42. SOCHA, Katarzyna *et al.* - **Status in Serum in Relation to Cognitive Functions of Patients with Alzheimer's Disease.** *Nutrients*(2021).
43. LOEF, Martin; SCHRAUZER, Gerhard N.; WALACH, Harald - **Selenium and alzheimer's disease: A systematic review.** *Journal of Alzheimer's Disease.* (2011) 81–104.