



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Vanessa Sofia Rocha Cipriano

Relatórios de Estágio sob a orientação do Dr. André Paiva e da Dra. Inês Marchã Cardoso e Monografia intitulada “The Role of Blood-Brain Barrier in Alzheimer’s Disease: From dysfunction to recovery” sob orientação da Professora Doutora Armanda Emanuela Castro e Santos, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

Vanessa Sofia Rocha Cipriano

Relatórios de Estágio sob a orientação do Dr. André Paiva e da Dra. Inês Marchã Cardoso e Monografia intitulada “The Role of Blood-Brain Barrier in Alzheimer’s Disease: From dysfunction to recovery” sob orientação da Professora Doutora Armanda Emanuela Castro e Santos, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023

Eu, Vanessa Sofia Rocha Cipriano, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2018274101, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “The Role of Blood-Brain Barrier in Alzheimer’s Disease: From dysfunction to recovery” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 1 de setembro de 2023.

Vanessa Sofia Rocha Cipriano

(Vanessa Sofia Rocha Cipriano)

Agradecimentos

Aos meus pais e irmão, por me darem a oportunidade de viver esta incrível aventura e serem a minha base em todos os momentos. Aos meus avós, Mimi, Tony, Cármen, Elói e restante família, por me permitirem viver nesta bolha de amor.

Às minhas amigas do coração, Ana, Ju, Rita, Catarina, Joana, Leonor e Paula, vocês que estão lá desde o início, obrigada por esta amizade incondicional e por todas as histórias que levarei comigo para a vida.

À Sara, Joana, Daniela, Nádia e Bea pelo constante apoio, por estarem lá nas gargalhadas e nas lágrimas. Estar com vocês é sinónimo de estar em Casa.

Aos meus padrinhos, Helena e Luís, e aos meus afilhados de faculdade e de tuna, vocês deram um verdadeiro significado a esta aventura. Tenho-vos a cada um de vocês no meu coração.

Ao DJ, Manel, Marco e Tiago, pela constante boa disposição e por tornarem os simples momentos em memórias inesquecíveis; E a todos os que viveram estes anos comigo e que permitiram que fossem, sem dúvida, os melhores anos da minha vida.

À Phartuna – Tuna de Farmácia de Coimbra,
Por todas as aventuras, por todas as amizades e por me fazer acreditar em mim própria.
Terei para sempre saudade dos tempos idos.

À Professora Doutora Armanda Santos,
pela sua simpatia, disponibilidade, apoio e orientação na escrita desta Monografia.

À equipa da Farmácia Estádio, em especial ao André, Ana, Luís, Adriana, Sara e Mónica,
com vocês aprendi o verdadeiro significado do que é ser um Farmacêutico.
Um obrigada especial à Bárbara, pelo companheirismo neste desafio, por ser um apoio constante e uma alegria aos meus dias.

A toda a equipa da Technimed *Consumer Healthcare*, em especial à Inês Cardoso, Madalena Duarte e Madalena Cruz, ficarei para sempre agradecida pelo voto de confiança.

A ti Coimbra,
quem te teve um só segundo nunca te irá esquecer.
A ti te levo para a vida.

ÍNDICE

Parte I: Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas.....	7
1. Introdução.....	8
2. Enquadramento.....	9
3. Análise SWOT.....	10
3.1. Pontos Fortes.....	10
3.1.1. Equipa técnica e método de trabalho.....	10
3.1.2. Plano de Estágio.....	11
3.1.3. Diversidade de categorias e de marcas.....	12
3.1.4. Diversidade de Serviços Farmacêuticos prestados aos utentes.....	12
3.1.4.1. Programas <i>Ezfy</i>	13
3.1.4.2. Preparação Individualizada da Medicação.....	13
3.1.4.3. Unidade de Apoio ao Hipertenso (UAH).....	14
3.2. Pontos Fracos.....	14
3.2.1. Escassa oportunidade de realizar medicamentos manipulados.....	14
3.2.2. Número de Estagiários.....	15
3.3. Oportunidades.....	15
3.3.1. Formação contínua.....	15
3.3.2. Diversidade de público.....	16
3.3.3. Período de realização do estágio.....	16
3.4. Ameaças.....	16
3.4.1. Medicamentos esgotados e rateados.....	16
3.4.2. Legibilidade das Receitas Manuais.....	17
3.4.3. Banalização da venda/consumo de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica.....	17
3.4.4. Hesitação dos utentes no atendimento por estagiários.....	18
4. Casos Práticos.....	18
4.1. Caso Prático 1 – Dermatite de contacto ocupacional.....	18
4.2. Caso Prático 2 – Candidíase Vaginal.....	19
4.3. Caso Prático 3 – Sub-dosagem de Brufen 20mg/mL.....	19
4.4. Caso Prático 4 – Diarreia.....	20
4.5. Caso Prático 5 – Acne.....	20
5. Considerações Finais.....	21
6. Referências Bibliográficas.....	22
ANEXOS.....	25

Parte II: Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Lista de Abreviaturas.....	30
1. Introdução.....	31
2. Enquadramento – Tecnimede <i>Consumer Healthcare</i>	32
3. Análise SWOT.....	32
3.1. Pontos Fortes.....	33
3.1.1. <i>Onboarding</i> e integração dos estagiários.....	33
3.1.2. Equipa TMCH.....	33
3.1.3. Diversidade de tarefas e autonomia.....	34
3.1.4. Desenvolvimento de capacidades tecnológicas – O papel do <i>Microsoft Excel</i>	34

3.2. Pontos Fracos	35
3.2.1. Pouco contacto com ferramentas de análise de mercado.....	35
3.3. Oportunidades.....	35
3.3.1. Participação em eventos	35
3.3.2. Acompanhamento em visitas a farmácias.....	36
3.3.3. Visita às instalações da <i>Atlantic Pharma</i> e <i>Profarin</i>	36
3.3.4. Rede de contactos.....	37
3.4. Ameaças	37
3.4.1. Período de estágio reduzido	37
3.4.2. Falta de conhecimentos teóricos na área de <i>marketing</i>	38
3.4.3. Abrangência da área de <i>marketing</i> a diversos profissionais	38
4. Considerações Finais	39
5. Bibliografia.....	40
ANEXO.....	41

Parte III: Monografia "The Role of Blood-Brain Barrier in Alzheimer's Disease: From dysfunction to recovery"

Abstract.....	43
Resumo.....	44
List of Abbreviations	45
1. Introduction	47
2. Alzheimer's Disease: Characterization and Physiopathology	48
3. Blood-Brain Barrier: Architecture and Mechanisms in Health and Disease.....	49
3.1. Brain Endothelial Cells	54
3.1.1. Adherens Junctions and Tight Junctions	56
3.2. Pericytes.....	57
3.3. Astrocytes	59
3.4. Basement Membrane	61
4. Blood-Brain Barrier Dysfunction and Drug Delivery Strategies.....	62
4.1. Implications of BBB Dysfunction on Drug Delivery	62
4.2. Opportunities for Drug Delivery Strategies in context of BBB Dysfunction.....	63
5. Blood-Brain Barrier as a Potential Therapeutic Target for Alzheimer's Disease	64
5.1. Restoring BBB transporter's function.....	64
5.2. Restoring Tight and Adherent Junctions	66
5.3. Restoring Pericytes	67
5.4. Restoring Astrocytes	67
5.5. Reverting Neuroinflammation	68
6. Conclusion and Future Perspectives.....	69
7. Bibliography.....	71

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Estádio



FARMÁCIA ESTÁDIO

Lista de Abreviaturas

AMPA – Auto-Medição da Pressão Arterial

ANF – Associação Nacional de Farmácias

AOBP – *Automated Office Blood Pressure*

ERPI – Estruturas Residenciais para Idosos

FE – Farmácia Estádio

MAPA 48 – Medição Ambulatória da Pressão Arterial durante 48h

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

MSRM – Medicamento Sujeito a Receita Médica

PA – Pressão Arterial

PIM – Preparação Individualizada da Medicação

PNV – Plano Nacional de Vacinação

PRM – Problemas Relacionados com os Medicamentos

PTS – Programa de Troca de Seringas

PVF – Preço de Venda à Farmácia

PVP – Preço de Venda ao Público

SIGREM – Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens e Medicamentos

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

TRAg – Testes Rápidos de Antigénio

UAH – Unidade de Apoio ao Hipertenso

I. Introdução

A Farmácia Comunitária é um setor pautado pela disponibilidade, proximidade e confiança, apresentando um papel preponderante na rede de cuidados de saúde primários. Inerente ao papel do farmacêutico comunitário está a responsabilidade em contribuir para a saúde e bem-estar da população através, não só da cedência e aconselhamento de diferentes terapêuticas, mas também da determinação de parâmetros físicos e bioquímicos, deteção precoce de doenças, literacia em saúde e promoção de um estilo de vida saudável. Para esse fim, é necessária uma constante aprendizagem e adaptação face à constante evolução da ciência e legislação, prezando pela saúde e bem-estar dos utentes.^{1;2}

O plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) encontra-se estruturado e planeado de modo a incluir no quinto ano do curso um estágio curricular obrigatório em Farmácia Comunitária. Este estágio é o culminar de todos os conhecimentos e competências técnicas exigidas profissionalmente, bem como o desenvolvimento de competências comportamentais e organizacionais necessárias para o desempenho do papel de Farmacêutico.³ Nesse seguimento, realizei o meu estágio curricular em Farmácia Comunitária na Farmácia Estádio (FE) sob orientação do Dr. André Paiva, Farmacêutico Substituto, e com o acompanhamento de uma equipa multidisciplinar com a qual tive o privilégio de trabalhar. Este período de estágio teve início a 9 de janeiro de 2023 e terminou a 27 de abril do mesmo ano, cumprindo as mandatórias 670 horas definidas pelo plano de estudos.

Ao longo deste relatório irei recorrer a uma análise SWOT (do inglês *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*) para descrever sistematicamente o meu estágio curricular em Farmácia Comunitária. Irei destacar de forma crítica os pontos fortes (*Strengths*) e os pontos fracos (*Weaknesses*) dos fatores internos, ou seja, aqueles inerentes à Farmácia Estádio e, por outro lado, as oportunidades (*Opportunities*) e as ameaças (*Threats*) através de uma avaliação dos fatores externos. Além disso, serão expostos cinco casos práticos de situações reais do quotidiano, dentro das diversas áreas de aconselhamento farmacêutico, que contribuíram para aprofundar não só os meus conhecimentos como também o meu sentido crítico, essencial no meu percurso enquanto estagiária e futura profissional de saúde.

2. Enquadramento

A FE localiza-se na Rua Dom João III, no Estádio da Cidade de Coimbra, composta por uma equipa de prestígio constituída pela Diretora Técnica, Farmacêutico Substituto, três Farmacêuticos, duas Técnicas de Farmácia, duas Técnicas Auxiliares de Farmácia e, finalmente, por um Caixeiro (Anexo I).

A FE evoluiu de forma notável na última década, primando pela inovação e melhoria do seu espaço, serviços e equipa, o que a torna atualmente numa farmácia bastante reconhecida e valorizada pelos seus utentes, possuindo um leque de clientes fidelizados.

As suas instalações são modernas, amplas e apelativas, compostas por sala de atendimento ao público com seis balcões de atendimento individualizados, sala de receção e gestão de encomendas, dois gabinetes de apoio ao utente, armazém, laboratório, gabinete de Direção Técnica, sala de Preparação Individualizada da Medicação (PIM), instalações sanitárias e copa.

A FE integra o grupo de compras e serviços “maisfarmácia”⁴, o que permite uma maior facilidade na aquisição de produtos bem como preços mais competitivos, e encontra-se inserida na rede de Farmácias Portuguesas da Associação Nacional de Farmácias (ANF), permitindo que os seus utentes usufruam das vantagens do Cartão Saúde.⁵ Para além disso, participa no Programa de Troca de Seringas (PTS) e no Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens de Medicamentos (SIGREM) gerido pela ValorMed.

É uma farmácia em constante adaptação face às necessidades do mundo atual e que aposta fortemente na componente digital através da sua página *online*, pela qual podem ser efetuadas encomendas, e das redes sociais, permitindo sempre um contacto próximo com o público acerca dos seus serviços e produtos. Realiza ainda entregas ao domicílio, permitindo satisfazer as necessidades dos utentes de forma mais simples e cómoda.

Em suma, uma farmácia adaptada às novas tecnologias e às necessidades da população, o que lhe garante a sua sustentabilidade e enorme prestígio.

3. Análise SWOT



3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Equipa técnica e método de trabalho

A FE é dotada de profissionais competentes, organizados, dedicados e bastante acessíveis. Para além das suas competências profissionais, considero que a equipa apresenta uma componente social impecável, prezando pela simpatia, espírito acolhedor e de entreatajuda. Toda a integração e confiança que me foram transmitindo teve um impacto positivo no meu processo de aprendizagem, deixando-me à vontade para questionar acerca de qualquer dúvida.

Ao longo do meu estágio, a equipa revelou-se particularmente preocupada com todos os utentes inculcando-me valores necessários no contacto com o público. Nesse sentido, foi-me inúmeras vezes reforçada a importância de garantir que cada utente sai da farmácia a perceber qual é o medicamento que vai tomar, quando tomar e todos os cuidados adicionais a ter durante a sua toma, prezando pelo uso racional dos medicamentos e por uma correta adesão à terapêutica.

Outro ponto positivo que destaco prende-se com o método *Kaizen* adotado pela farmácia. Este sistema de gestão de qualidade foi desenvolvido inicialmente no Japão e advém da palavra “KAI” que significa mudança e “ZEN” que indica sabedoria ou bondade. Recorrendo a este

método, é possível aumentar a eficiência do trabalho e melhorar os resultados, sempre numa perspectiva de melhoria contínua.⁶ Nas reuniões *Kaizen*, que se realizavam algumas vezes por mês e incluíam também os estagiários, analisavam-se diversos tópicos internos da farmácia, o que me permitiu estar a par de questões relacionadas com objetivos/metapas comerciais. Para além disso, em certas reuniões foi proposto aos estagiários a apresentação de produtos sem consumo, de forma a aumentar o seu escoamento, e adicionalmente permitiu alargar o meu conhecimento acerca de produtos com os quais nunca tinha contactado.

3.1.2. Plano de Estágio

O plano curricular do MICF apresenta uma densidade teórica elevada de modo a garantir a formação de profissionais de saúde competentes e multifacetados. O estágio curricular visa a passagem de todos os conhecimentos teóricos adquiridos à prática profissional, o que pode ser um processo bastante desafiante. Para o facilitar, a FE recorre a uma metodologia gradual de aquisição de conhecimentos e competências que considero fundamentais para a minha aprendizagem de forma mais leve e consolidada.

Numa primeira etapa, o meu estágio baseou-se maioritariamente no trabalho em *back-office*, que incluiu a execução de variadas tarefas, tais como receção de encomendas, armazenamento, gestão de devoluções, recolha do ValorMed⁷ e registo de entrada e saída de medicamentos contendo substâncias estupefacientes ou psicotrópicas.⁸ Deste modo, considero que o trabalho que tive exclusivamente em *backoffice*, com a duração de sensivelmente um mês, acabou por ser bastante dinâmico e fundamental para a minha familiarização com a farmácia e, particularmente, com o Sistema SIFARMA[®].⁹

Posteriormente, recebi uma pequena formação dada por um membro da equipa acerca dos diversos serviços de gabinete de apoio ao utente, nos quais se incluem a avaliação da pressão arterial (PA) e de parâmetros bioquímicos nomeadamente, glicémia, colesterol e triglicéridos. Esta formação foi essencial para garantir um correto manuseamento dos equipamentos, a interpretação dos resultados e uma boa comunicação com o utente durante a medição dos parâmetros.

Na seguinte etapa, comecei a assistir aos atendimentos realizados pelos membros da equipa da FE, o que me permitiu perceber quais as perguntas necessárias a fazer aos utentes durante o atendimento e a melhor forma de os abordar. Posteriormente, iniciei o atendimento com o acompanhamento de um farmacêutico e, apenas depois desta etapa, é que me tornei mais autónoma.

Do meu ponto de vista, esta aprendizagem faseada teve um papel fulcral para o desenvolvimento da minha segurança no atendimento ao público e permitiu a consolidação gradual de todos os conhecimentos.

3.1.3. Diversidade de categorias e de marcas

A FE é especialista numa enorme gama de categorias, pelo que tive a oportunidade de contactar com bastantes áreas e enriquecer e expandir o meu conhecimento em muitas direções.

O espaço interior da FE está devidamente organizado com as diferentes categorias divididas em farmácia da família, mãe e bebé, cuidado oral, ortopedia, saúde animal, homeopatia e fitoterapia, capilares, sexualidade e cosméticos. Destaco a variedade de marcas existentes na dermocosmética, o que permitiu não só aceder às necessidades individuais dos utentes, mas também exigiu da minha parte o domínio de cada uma delas, ponto que considero bastante positivo.

3.1.4. Diversidade de Serviços Farmacêuticos prestados aos utentes

Atualmente, de modo a garantir a sua sustentabilidade, as farmácias devem adaptar-se às diferentes necessidades dos utentes no sentido de promoverem serviços diferenciados e de qualidade. É com este propósito que a FE apresenta uma diversidade de serviços que a fazem sobressair, tais como a produção de medicamentos manipulados, Preparação Individualizada da Medicação (PIM), a administração de medicamentos injetáveis e administração de vacinas não incluídas no Plano Nacional de Vacinação, medição de parâmetros bioquímicos, realização de Testes Rápidos de Antígeno (TRAg), *Influenza* e *Streptococcus* e, ainda, consultas de Nutrição e Podologia. A FE tornou-se, no início do presente ano, uma Unidade de Apoio ao Hipertenso (UAH) e é, ainda, uma das dezenas de farmácias inseridas no Movimento *Ezfy*, que disponibiliza um conjunto de programas que têm como objetivo simplificar a saúde através de um acompanhamento clínico personalizado aos seus utentes.

Dos serviços em cima apresentados, quero destacar de seguida os três serviços que considero terem contribuído de forma mais robusta para o meu estágio curricular, bem como para a minha perceção da versatilidade de tarefas que uma Farmácia Comunitária pode apresentar.

3.1.4.1. Programas Ezfy

A FE é um dos pontos do território nacional aderentes ao Movimento *Ezfy*, com vista a prestar um acompanhamento gratuito e de qualidade aos seus utentes. O programa tem como objetivo simplificar e antecipar problemas relacionados com a jornada da saúde, e promover a segurança e efetividade das terapêuticas farmacológicas.¹⁰ Realiza-se recorrendo a pequenos questionários presenciais ou, na maior parte dos casos, por chamada telefónica, previamente consentidos pelo utente.

Durante o meu estágio curricular, existiram diversos programas com recrutamento ativo, nomeadamente: Primeira Dispensa, Intestino Feliz, SimplificAR, Porta Aberta e Glicémia no Alvo. Entre eles, destaco o Programa Primeira Dispensa, cujo objetivo é acompanhar os utentes que irão iniciar a toma de um medicamento para uma doença crónica. A singularidade deste programa permite perceber não só se o utente está a aderir à terapêutica e se apresenta algum efeito secundário ou interação com outra medicação, mas também prestar ao doente um serviço completamente diferenciado com vista a esclarecer qualquer dúvida que possa existir, contribuir para uma correta adesão à terapêutica e evitar Problemas Relacionados com os Medicamentos (PRM).

Para facilitar o meu primeiro contacto com este serviço, tive a oportunidade de participar numa reunião “*Get Started*”, específica para todos os estagiários dos pontos *Ezfy*, que considero ter sido extremamente positiva para moldar a minha perceção da importância destes programas na área da saúde.

3.1.4.2. Preparação Individualizada da Medicação

A PIM é um serviço farmacêutico que apresenta como objetivo garantir que os pacientes crónicos, polimedicados e muitas vezes mais debilitados e dependentes, recebem a medicação correta, na dosagem certa e com a posologia adequada. Assim, a PIM envolve a organização dos medicamentos sólidos orais, tais como comprimidos e cápsulas, de um paciente em dispositivos individuais, o que simplifica o processo de toma de medicamentos, reduz os erros na toma dos mesmos, garante a adesão ao tratamento e evita os desperdícios de recursos em saúde que advêm da não adesão.¹¹

A FE disponibiliza este serviço à população, não só a utentes individuais, mas principalmente a estruturas residenciais para idosos (ERPI), disponibilizando este serviço a 10 instituições dentro da cidade de Coimbra. Este serviço farmacêutico realizado na FE engloba dois processos diferentes, manual ou automatizado. Este último recorre a um *robot* PIM com

auxílio de dois *softwares* informáticos, *TI-Dose*[®] e *On-Cube*[®], com os quais tive a oportunidade trabalhar.¹²

O contacto próximo com este serviço farmacêutico, cada vez mais emergente, consciencializou-me para a diferença que pode fazer na promoção da saúde dos utentes.

3.1.4.3. Unidade de Apoio ao Hipertenso (UAH)

A FE é uma das farmácias com o serviço de UAH, encontrando-se equipada com tecnologias inovadoras de medição e monitorização da PA.¹³ O principal objetivo é fornecer aos seus utentes serviços diferenciados e de qualidade com vista a diagnosticar e controlar a Hipertensão. Assim, para além do tradicional aparelho de monitorização da PA, a FE possui um dispositivo *OMRON 907* que realiza a medição automatizada da PA (do inglês, *Automated Office Blood Pressure - AOBP*) de forma mais fiável. Numa primeira fase, existe um intervalo de repouso de cinco minutos, garantindo que o utente está descansado e relaxado, e posteriormente seguem-se três medições consecutivas da PA com um intervalo de 1 minuto entre cada, gerando uma média das três no final. Este processo ocorre sem a presença de um farmacêutico, eliminando assim o efeito da bata branca. Adicionalmente, as UAH possuem ainda um aparelho de medição ambulatória da PA durante 48h (MAPA 48) que permite medir a hipertensão verdadeira, mascarada, avaliar o risco cardiovascular e monitorizar o tratamento para a hipertensão.

A FE aderiu a este serviço precisamente na primeira semana do meu estágio curricular, pelo que tive a oportunidade participar na formação juntamente com os outros membros da equipa e apresentar um papel ativo na implementação deste serviço.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Escassa oportunidade de realizar medicamentos manipulados

Os medicamentos manipulados surgem como solução para suprimir as diferentes necessidades terapêuticas e individuais dos utentes, através da preparação de medicamentos que não estejam disponíveis no mercado. Os medicamentos manipulados definem-se como qualquer fórmula magistral ou preparado oficial, preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico com vista a diminuir o risco de reações e de outros efeitos secundários.¹⁴

Contudo, apesar de considerar este serviço uma vantagem relativamente a outras farmácias, durante o meu período de estágio apenas tive a oportunidade de realizar um

medicamento manipulado, o que não me permitiu ganhar autonomia e consolidar as minhas competências nessa área. Não obstante, o medicamento manipulado que tive oportunidade de realizar – uma pomada de ácido salicílico e ureia em vaselina – permitiu-me conhecer, de forma superficial, o processo de preenchimento das fichas de preparação de medicamentos manipulados, os cálculos inerentes à determinação do Preço de Venda ao Público (PVP), bem como o acondicionamento e rotulagem.

3.2.2. Número de Estagiários

O meu estágio curricular foi realizado em conjunto apenas com outra colega nos meses de janeiro e fevereiro, o que considero ter sido fundamental para a minha aprendizagem, pela mútua troca de conhecimentos e, ainda, por impulsionar a minha rápida adaptação à equipa e à farmácia. Contudo, a partir do mês de março, a FE acolheu mais duas colegas estagiárias, e mais uma estagiária partir do mês de abril, pelo que durante o meu último mês éramos simultaneamente cinco estagiárias na farmácia.

Apesar de nos apresentarmos em diferentes patamares de aprendizagem e conseqüentemente a executar diferentes tarefas na farmácia, considero que a disponibilidade dos membros da equipa se encontrou mais reduzida para garantir o acompanhamento necessário.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Formação contínua

Segundo o Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, os farmacêuticos têm a obrigação de atualizar e reforçar as suas competências profissionais através da formação contínua.¹⁵ Face à constante evolução da ciência e à entrada no mercado de novos produtos, tive oportunidade de assistir a diversas formações que contribuíram para estar mais confortável no momento do aconselhamento. Com auxílio dos delegados de informação médica das respetivas marcas, tive oportunidade de realizar formações das seguintes marcas: Filorga® (Anexo 4), Uriage®, La Roche Posay®, Lierac® e Phyto®, Curaprox®, Colagenius®, Hyabak®, entre outros.

Devido à variedade de produtos que cada marca apresenta, particularmente na área da dermocosmética, estas formações complementares tornaram-se fundamentais para aumentar a minha segurança e confiança no aconselhamento farmacêutico.

3.3.2. Diversidade de público

A FE localiza-se no centro da cidade de Coimbra, rodeada de clínicas, centros comerciais, cafés e restaurantes, estabelecimentos de ensino e, ainda, próxima de uma ampla zona habitacional, pelo que apresenta um público com uma vasta heterogeneidade nas suas necessidades. Apresenta, ainda, uma grande notoriedade na cidade de Coimbra, possuindo muitos clientes fidelizados, com os quais pude estabelecer uma relação de confiança ao longo do meu estágio, e adicionalmente, muitos clientes ocasionais, devido à proximidade com os variados estabelecimentos públicos.

Esta heterogeneidade de utentes permitiu o contacto com diversas áreas de aconselhamento devido às suas necessidades individuais e, ainda, o desenvolvimento das minhas capacidades de comunicação e interação com os utentes.

3.3.3. Período de realização do estágio

A realização do meu estágio curricular coincidiu com os meses de inverno, nos quais a incidência de gripes e constipações é bastante alta, e, portanto, a procura de antigripais, xaropes e pastilhas para a garganta é muito recorrente; mas também nos meses de primavera, na qual se nota uma grande procura de anti-histamínicos, protetores solares e repelentes de insetos, devido às alergias e ao calor. Tal facto tornou-se uma mais-valia, na medida em que foi possível expandir o meu conhecimento e ganhar autonomia em diferentes áreas de aconselhamento.

3.4. Ameaças

3.4.1. Medicamentos esgotados e rateados

Atualmente, no mercado farmacêutico português, a existência de medicamentos esgotados e/ou rateados, isto é, com uma disponibilidade reduzida, é uma situação frequente no dia-a-dia de um farmacêutico comunitário. No decorrer do meu estágio curricular, existiram diversos medicamentos em falta, nomeadamente Inderal[®], Rivotril[®] e Zepacla[®], Ovestin[®] e Ozempic[®].

A FE adota diversas ações com vista a tentar satisfazer as necessidades dos utentes perante estes casos, nomeadamente, o contacto direto com o médico prescriptor a fim de arranjar uma alternativa terapêutica ou aquisição do medicamento junto a outras farmácias. Contudo, nem sempre estas soluções mostraram resultados, o que criava situações de descontentamento e frustração dos utentes.

Torna-se, deste modo, uma ameaça para mim, enquanto estagiária, mas principalmente para todos os farmacêuticos comunitários que não conseguem fornecer aos seus utentes uma alternativa terapêutica, podendo interferir seriamente com a saúde e bem-estar da população.

3.4.2. Legibilidade das Receitas Manuais

A prescrição de medicamentos e outras tecnologias de saúde compartilhadas pode ser efetuada por dois processos diferentes, maioritariamente através de receitas por meios eletrónicos, mas também por receitas manuais, em situações excecionais. Segundo a legislação em vigor, uma prescrição manual é apenas permitida em situações de falência informática, inadaptação fundamentada do prescriptor, prescrição no domicílio ou até 40 receitas por mês.¹⁶

Durante o estágio curricular, tive oportunidade de contactar com todos os tipos de receitas, o que considero fundamental para a minha autonomia e segurança durante qualquer tipo de receita. Não obstante, considero que a dificuldade com a qual me deparei na interpretação da caligrafia do médico prescriptor, foi uma ameaça ao meu estágio. No decorrer de atendimentos nos qual existissem receitas manuais, fui obrigada a solicitar ajuda dos colaboradores da farmácia, retirando a minha autonomia e causando alguns constrangimentos ao longo do processo.

3.4.3. Banalização da venda/consumo de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

Ao longo do meu estágio curricular em farmácia comunitária, deparei-me frequentemente com situações nas quais os utentes solicitavam medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) sem, no entanto, possuírem a respetiva prescrição médica. Esta problemática ocorreu muitas vezes em medicamentos crónicos, mas também de forma muito acentuada em antibióticos e outros MSRM, alegando que como já os tinham usado noutra altura não haveria problema em voltar a utilizá-los face a sintomas idênticos aos anteriores. Tal como esperado, a FE adota uma política bastante exigente nessas situações, não cedendo os medicamentos pedidos de modo a garantir a segurança e bem-estar dos seus utentes. Apesar de tentar explicar aos utentes os riscos que a automedicação pode ter, nem todos entendiam a gravidade da situação e acabavam por ficar frustrados, o que se acentuava quando o atendimento era realizado por estagiários.

O farmacêutico apresenta um papel preponderante nestas situações, na medida em que deve prestar um serviço de aconselhamento adequado e deve instruir a população para todos

riscos que a automedicação apresenta, zelando pelo uso racional dos medicamentos e saúde dos utentes.

3.4.4. Hesitação dos utentes no atendimento por estagiários

Durante o atendimento ao balcão deparei-me frequentemente com situações nas quais os utentes preferiam ser atendidos por outros membros da equipa da FE do que pelos estagiários. As justificações defendiam que os colaboradores habituais da farmácia já estariam familiarizados com as suas terapêuticas ou muitas das vezes, nos casos de pessoas mais idosas, porque queriam ter um momento para conversar e desabafar com quem já conheciam. Contudo, em alguns casos, deparei-me com momentos de desconfiança e hesitação durante o atendimento e nas informações que transmitia, o que, por vezes, se tornou desencorajador e teve impacto na minha confiança.

4. Casos Práticos

4.1. Caso Prático I – Dermatite de contacto ocupacional

Utente do sexo feminino, jovem, dirige-se à farmácia mostrando a pele das mãos e braços que se encontrava bastante irritada e com vermelhidão, há cerca de três dias. Realça, ainda, prurido intenso. A jovem acrescenta que trabalha numa cozinha, pelo que está constantemente em contacto com água quente e produtos de limpeza.

Tendo em conta a aparência clínica e uma vez que a região da dermatite é consistente com as zonas em contacto com os produtos, percebi que estaria perante uma dermatite de contacto ocupacional. A dermatite de contacto é uma inflamação na pele que ocorre pela exposição a um determinado componente, causando alergia e irritação. Neste caso, tratava-se, provavelmente, de uma dermatite alérgica que apareceu após repetidas exposições aos produtos de limpeza utilizados na cozinha. A repetida exposição à água quente estaria também a agravar o problema, ao causar uma desidratação intensa, agredindo a barreira cutânea.

Deste modo, aconselhei a aplicação de Hidrocortisona Bluepharma[®], um corticosteróide de baixa potência para diminuir a inflamação da pele e o intenso prurido provocado pela dermatose, para ser usado 2 a 3 vezes por dia nas áreas afetadas. Adverti a utente para não aplicar o creme caso tivesse a pele ferida e apenas por um período máximo de 5 dias. Apesar da baixa potência do corticosteróide, adverti para a questão do desmame, reduzindo a sua aplicação de forma gradual até à suspensão, de forma a evitar o reaparecimento dos sintomas (efeito *rebound*).¹⁷ Caso não sentisse melhorias, aconselhei a utente a consultar um médico.

Para além disso, uma vez que a comichão era bastante intensa, sugeri o uso de um anti-alérgico de venda livre, Cetirizina Bluepharma[®], fazendo a toma de um comprimido por dia.¹⁸ Por último, aconselhei a utilização de Ducray DEXYANE MeD[®], creme barreira, calmante e reparador, que devido ao seu efeito ultra hidratante teria efeito a nível da reparação e proteção da barreira da pele.¹⁹ Aconselhei a colocação de luvas de algodão após aplicação do creme barreira e recomendei, ainda, o uso de luvas na realização do seu trabalho evitando o contacto com os agentes agressivos.

4.2. Caso Prático 2 – Candidíase Vaginal

Utente do sexo feminino, cerca de 30 anos, dirige-se à farmácia queixando-se de um intenso prurido e vermelhidão na vulva e um corrimento anormal branco e muito espesso. Acrescenta que já se tinha dirigido a outra farmácia há 3 dias e que lhe aconselharam Lactacyd[®] Antiséptico, mas que não tinha visto melhorias. Questionei a utente se notava algum odor desagradável e da existência de sangue no corrimento, sendo a resposta a ambas negativa.

Deste modo, perante a sintomatologia apresentada percebi que se tratava de uma infeção fúngica, sendo o mais aconselhado um Gino-Canesten[®] creme vaginal.²⁰ Este é um Medicamento Não Sujeito a Receita Médica (MNSRM) composto por 10mg/g de clotrimazol, um antifúngico, para aplicar à noite durante 6 dias. No entanto, em conversa com a utente, ela referiu que iria ter a menstruação brevemente. Perante esta nova informação, e uma vez que o creme vaginal Gino-Canesten[®] não deve ser utilizado durante o período menstrual, optei por aconselhar o óvulo de Gino-Canesten, uma cápsula mole de aplicação vaginal única composto por 500mg de clotrimazol.²¹

Para além disso, reforcei a importância de se fazer uma adequada higiene íntima, pelo que poderia continuar a utilizar o Lactacyd[®] Antiséptico, para reforçar as defesas naturais da zona íntima, inibir o crescimento bacteriano e prevenir infeções²², e de medidas não farmacológicas como a utilização de roupa interior de algodão.

4.3. Caso Prático 3 – Sub-dosagem de Brufen 20mg/mL

Utente do sexo feminino, cerca de 30 anos, dirige-se à farmácia e pede ajuda para baixar a febre do seu filho com 7 anos. Explicou que lhe tem dado 5ml de Brufen[®] 20mg/mL de 8h em 8h. Comecei por questionar o peso da criança, ao qual me respondeu que tinha 28kg. Tendo em conta o seu peso, percebi que estaria perante uma sub-dosagem do ibuprofeno, sendo que a dose mínima efetiva seria 7mL e a máxima seriam 14mL (Anexo 5). Numa primeira fase aconselhei dar 14mL de Ben-U-Ron[®] 40mg/mL e, caso a febre não baixasse, aconselhei a

intercalar com a nova quantidade de ibuprofeno, fazendo o esquema posológico exposto no Anexo 6.^{23,24} Tendo em conta a grande quantidade de Brufen® 20mg/mL que teria de administrar sugeri à utente pedir ao médico para lhe prescrever Brufen® 40mg/mL (MSRM) uma vez que só teria de administrar 7mL de 8 em 8 horas, o que seria mais cómodo.²⁵

Durante o meu período de estágio deparei-me com inúmeros casos semelhantes a este, pelo que foi proposto aos estagiários a realização de uma tabela explicativa das doses de paracetamol e ibuprofeno para as crianças e a sua posterior apresentação durante uma reunião *Kaizen* (Anexo 7).

4.4. Caso Prático 4 – Diarreia

Utente do sexo feminino, chega à farmácia e começa por explicar que o seu filho com 16 anos vai realizar uma viagem escolar fora de Portugal nos próximos dias, e mostra a sua preocupação porque muitos dos colegas do seu filho têm tido gastroenterites. Apesar do seu filho não apresentar qualquer sintoma, pede o aconselhamento de medicamentos que o seu filho possa levar para a viagem, para tomar no caso de se sentir mal.

Começo por explicar que em caso de diarreia o tratamento mais importante é sempre prevenir a desidratação. Deste modo, começo por aconselhar a ingestão de bastante água e a reposição de fluidos e eletrólitos através do Dioralyte®, um pó para dissolver em pelo menos 250mL água.²⁶ Para a reposição da flora intestinal aconselhei Atyflor®, para tomar 1 saqueta.²⁷ Por fim, tendo em conta que irá viajar e em que, caso tenha diarreia, seria difícil estar por casa, sugeri levar ainda um Imodium Rapid®, em comprimidos orodispersíveis para serem tomados 1 ou 2 como dose inicial e posteriormente 1 comprimido por cada dejeção líquida, até um máximo de 6 comprimidos por dia. Tendo em conta que são comprimidos orodispersíveis e que se dissolvem rapidamente na boca, adverti para o facto de ser necessário ter cuidado ao retirar do invólucro para não os esmagar.²⁸

4.5. Caso Prático 5 – Acne

Utente do sexo masculino, com cerca de 20 anos, chega à farmácia com uma prescrição médica de isotretinoína 10mg, e pede, ainda, um creme indicado para peles acneicas que já costuma utilizar. Durante o atendimento, percebi que iria iniciar o tratamento pela primeira vez, pelo que questionei se tinha sido informado pelo seu dermatologista acerca dos cuidados e precauções. O utente revela que não poderá apanhar sol e que não pode consumir bebidas alcoólicas durante o tratamento. Adicionalmente, expliquei que os tratamentos com

isotretinoína apresentam alguns efeitos secundários, nomeadamente, a secura da pele e das mucosas devido à redução da atividade das glândulas sebáceas.

Ao consultar a ficha da utente e o respetivo histórico de vendas, associei o creme para peles acneicas que me tinha pedido ao Effaclar Duo (+) da La Roche Posay[®].²⁹ Prontamente lhe expliquei que esse tipo de cuidados seborreguladores não seriam indicados na sua situação e aconselhei o Sebium Gel *moussant* da Bioderma[®] para a lavagem diária da sua pele e, ainda, o Sebium ISOKIT[®] composto por um bálsamo labial e um creme hidratante, indicado para peles oleosas temporariamente secas e fragilizadas, como era o seu caso. Caso a secura das mucosas fosse muito intensiva aconselhei o uso de água do mar isotónica para a hidratação nasal e a aplicação de gotas para uma hidratação ocular.^{30, 31, 32} Por último, reforcei a importância de reduzir ao máximo a exposição solar e o uso de um protetor solar com fator de proteção 50+, não comedogénico, devido à fotossensibilidade provocada pela isotretinoína.

5. Considerações Finais

Concluído o meu estágio curricular na FE, afirmo que estes 4 meses permitiram-me consolidar todos os conhecimentos adquiridos ao longo dos cinco anos do MICEF, tendo ultrapassado bastante as minhas expectativas. Termina esta etapa ciente do meu crescimento profissional e da minha evolução pessoal com destaque no desenvolvimento das minhas capacidades de comunicação, adaptação, autonomia e proatividade.

O meu mais sincero obrigado a toda a equipa da FE, formada por profissionais de sucesso, que me proporcionaram esta experiência tão enriquecedora que foi o meu primeiro contacto com o mundo profissional. Este estágio curricular marcou-se por toda aprendizagem, mas também por esta excelente equipa, à qual deixo o meu mais sincero obrigado.

A singularidade desta farmácia, com grande destaque nos serviços que proporciona e o cuidado e preocupação que tem com todos os seus utentes, ensinaram-me o verdadeiro impacto que o farmacêutico comunitário tem na população.

6. Referências Bibliográficas

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **A Farmácia Comunitária** [Acedido a 29 de janeiro de 2023]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/>
2. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS. **Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária** [Acedido a 29 de janeiro 2022]. Disponível em: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/boas_praticas_farmaceuticas_para_a_farmacia_comunitaria_2009_20853220715ab14785a01e8.pdf
3. Parlamento Europeu e do Conselho da União Europeia - Diretiva 2013/55/EU de 20 de novembro de 2013. Jornal Oficial da União Europeia. 354 (2013) 132-170.
4. **Grupo Mais Farmácia** [Acedido a 15 abril de 2023]. Disponível em: www.maisfarmacia.org
5. **Farmácias Portuguesas** [Acedido a 15 abril de 2023]. Disponível em: <https://www.farmaciasportuguesas.pt>
6. KAIZEN INSTITUTE – **Sobre nós**. [Acedido a 15 de abril de 2023]. Disponível em: <https://pt.kaizen.com/sobre-nos.html>
7. VALORMED. Quem Somos [Acedido a 8 de março de 2013]. Disponível em: <http://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>
8. INFARMED – **Psicotrópicos e estupefacientes**. 2010. [Acedido a 25 de abril de 2023]. Disponível em: https://www.infarmed.pt/documents/15786/1228470/22_Psicotropicos_Estupefacientes.pdf
9. GLINTT. Sifarma. [Consult. 15 de abril de 2023] Disponível na Internet: <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/SoftwareSolutions/Paginas/Sifarma.aspx>
10. EZFY – **Quem Somos**. [Acedido a 12 de abril de 2023]. Disponível em: <https://www.ezfy.eu/quem-somos>
11. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Norma Geral: Preparação Individualizada da Medicação (PIM)**. [Acedido a 16 de abril de 2023]. Disponível em: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma_pim_vfinal_30_nge_00_010_02_1834827175bf58d479434f.pdf
12. TIMEDI - **Portal da TiMedi** [Acedido a 12 de abril de 2023]. Disponível em: <https://www.ti-medi.com/>

13. UAH - **Unidades de Apoio ao Hipertenso** [Acedido a 12 de abril de 2023]. Disponível em: <https://www.uah.pt/>
14. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Norma Específica sobre a Manipulação de Medicamentos N° OF.C-N006-00: Boas Práticas de Farmácia Comunitária (2018a)**. [Acedido a 22 de agosto de 2020]. Disponível em: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/of.c_n006_00_norma_especifica_sobre_manipulacyayo_de_medicamentos_20991760195afd9cafc3f20.pdf
15. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS. Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos [Acedido a 1 de maio de 2023]. Disponível em: <http://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/a-ordem-dos-farmaceuticos/regulamentos/>
16. Ministério da Saúde - Portaria n.º 224/2015 de 27 de julho - Diário da República n.º 144/2015, Série I (2015), [Acedido a 20 de abril de 2023]. Disponível em: <https://dre.pt/applicationconteudo/69879391>
17. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento - Hidrocortisona Bluepharma 10mg/g creme** [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMEDfo/pesquisa-avancada.xhtml>
18. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento - Cetirizina Bluepharma 10mg** [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMEDfo/pesquisa-avancada.xhtml>
19. DUCRAY - **DEXYANE MeD – Cuidado para eczema** [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://www.ducray.com/pt-pt/f/produtos/eczema/dexyane-med>
20. BAYER - **GINO-CANESTEN CREME VAGINAL**. [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://www.antifungicos.bayer.pt/produtos/saude-intima-feminina/gino-canesten-creme-vaginal>
21. BAYER - **GINO-CANESTEN CÁPSULA MOLE VAGINAL**. [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://www.antifungicos.bayer.pt/produtos/saude-intima-feminina/gino-canesten-capsula-mole-vaginal>
22. LACTACYD – **LACTACYD PHARMA ANTISÉPTICO**. [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://www.lactacyd.pt/lactacyd/portfolio/lactacyd-pharma-antiseptico/>

23. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento - Brufen Sem Açúcar 20mg/ml suspensão oral** [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMEDfo/pesquisa-avancada.xhtml>
24. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento - Ben-U-Ron 40mg/ml xarope** [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMEDfo/pesquisa-avancada.xhtml>
25. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento - Brufen Sem Açúcar 40mg/ml suspensão oral** [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMEDfo/pesquisa-avancada.xhtml>
26. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento – Dioralyte, pó para solução oral (sabor neutro)** [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMEDfo/pesquisa-avancada.xhtml>
27. ITALFARMACO PORTUGAL – **ATYFLOR** [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://www.italfarmaco.pt/p/atyflor>
28. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento – Imodium Rapid 2mg, comprimidos orodispersíveis** [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMEDfo/pesquisa-avancada.xhtml>
29. LA ROCHE POSAY - **EFFACLAR DUO(+)**. [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://www.laroche-posay.pt/effaclar/effaclar-duo-plus>
30. BIODERMA - **SÉBIUM GEL MOUSSANT**. [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://www.bioderma.pt/os-nossos-produtos/sebium/gel-moussant>
31. Bioderma - Sébium Hydra | Hidratante para peles oleosas e com tendência a acne. [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://www.bioderma.pt/os-nossos-produtos/sebium/hydra>.
32. Bioderma - Atoderm Bálsamo Labial | Bálsamo labial para lábios muito secos & com cieiro. [Acedido a 7 de maio de 2023]. Disponível em: <https://www.bioderma.pt/os-nossos-produtos/atoderm/baume-levres>.

ANEXOS

ANEXO 1 | Constituição da Equipa da Farmácia Estádio

Diretor Técnico	Dra. Ana Isabel Rebelo
Farmacêutico Substituto	Dr. André Paiva
Farmacêuticos	Dra. Ana Cardoso, Dra. Mónica Gomes, Dr. Luís Cavaleiro
Técnicos de Farmácia	Adriana Matos, Edite Dinis
Técnicos Auxiliares de Farmácia	Dina Rodrigues, Sara Freitas
Caixeiro/Aprovisionamento	João Pedro Roxo

ANEXO 2 | Preparação Individualizada da Medicação (PIM) – processo manual



ANEXO 3 | Robot de Preparação Individualizada da Medicação (PIM)



ANEXO 4 | Certificado de Participação na formação da Filorga®



ANEXO 5 | Cálculo da dose de ibuprofeno

✓ 5mg-10mg/Kg/toma

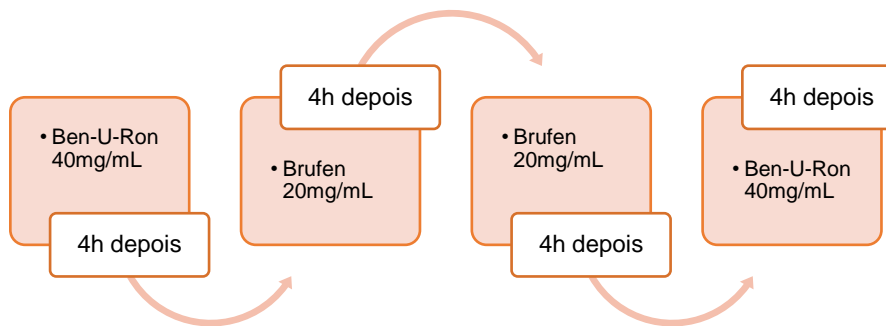
Dose máxima/toma

$$\text{Peso}/2 = 28/2 = 14 \text{ mL}$$

Dose mínima/toma:

$$\begin{aligned} 5\text{mg} \times 28\text{kg} &= 140\text{mg/toma} \\ 20\text{mg} &\text{----- } 1\text{ml} \\ 140\text{mg} &\text{----- } x \\ x &= 7\text{mL} \end{aligned}$$

ANEXO 6 | Posologia de Brufen® 20mg/mL e Ben-U-Ron® 40mg/mL



ANEXO 7 | Flyer explicativo das doses de Ben-U-Ron® e Brufen® para crianças



Cálculo da Dose para Crianças

	[MÍNIMA]/toma	[MÁXIMA]/toma	Dose máxima diária
IBUPROFENO	5 mg	10 mg	30 mg/kg/dia
PARACETAMOL	15 mg	20 mg	60 mg/kg/dia

NOTA: Ibuprofeno 40 mg/ml só a partir de 1 ano de idade e dos 10kg.

BEN-U-RON



Dosagem standard: 40 mg/ml

Dose Máxima: 20mg

Peso/2

Dose Mínima: 15mg/kg/toma

Ex: Criança de 6kg

15mg x 6 kg = 90 mg/toma

40 mg ----- 1 ml

90 mg ----- x

X = 2.25 ml

Paracetamol 40 mg/ml para uma criança com 6kg → fazer 2.25 ml até 4x ao dia

Dose máxima diária: 60 mg/kg/dia

60mg x 6 kg/dia = 360 mg

40 mg ---- 1 ml

360 mg ----- x

X = 9 ml/ dia

VERIFICANDO: 9 ml/ 2.25 ml = 4 tomas

BRUFEN



Dosagem standard: 20 mg/ml

Dose Máxima: *Peso/2*

Dosagem não standard: 40 mg/ml

Peso/4

Ex: 18 kg → 4.5 ml de 8/8h



Importante: As fórmulas *peso/2* só se aplicam para as doses standard e para as concentrações máximas.

PARTE II

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Grupo Tecnimede



Lista de Abreviaturas

DIM – Delegado de Informação Médica

DMK – Departamento de *Marketing*

EC – Estágio Curricular

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

GTM – Grupo Tecnimede

HMR – *Health Market Research*

iTOP – *Individually Trained Oral Prophylaxis*

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

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

TMCH – Tecnimede *Consumer Healthcare*

I. Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) é composto por um plano de estudos bastante robusto e completo, de modo a englobar as inúmeras saídas profissionais pelas quais se pode enveredar. Para além de todos os conhecimentos teóricos adquiridos, o contacto com a prática profissional é um dos pontos-chave para formar profissionais de sucesso. Nesse seguimento, a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) proporciona aos estudantes do MICF a oportunidade de realizar um Estágio Curricular (EC) noutras áreas do medicamento, para além da mandatória Farmácia Comunitária. Esta é uma oportunidade enriquecedora e certamente uma mais-valia para todos os estudantes da FFUC.

Perante o contacto com a unidade curricular de Comunicação e *Marketing* Farmacêutico, e no decorrer do meu percurso académico, fui desenvolvendo bastante interesse e curiosidade pela área de *marketing*. Foi com base neste gosto e ciente do prestígio que o Grupo Tecnimede (GTM) apresenta, como uma das maiores indústrias farmacêuticas portuguesas, que tomei a decisão de realizar o meu segundo EC no Departamento de *Marketing* (DMK) da Tecnimede *Consumer Healthcare* (TMCH).

O estágio teve a duração de três meses, com início no dia 1 de maio e término no dia 28 de julho do presente ano, sob orientação da Dr. Inês Marchã Cardoso, *Business Unit Manager*, e auxílio da Dra. Madalena Duarte, *Product Manager* e da Dra. Madalena Cruz, *Trade Marketing Manager*. Todas as aprendizagens e experiências que obtive com este EC estão descritas no presente relatório, redigido através de uma análise SWOT (do inglês *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*).

2. Enquadramento – Tecnimede *Consumer Healthcare*

O GTM é uma indústria multinacional 100% portuguesa criada em 1980, com presença atual em Marrocos, Espanha, Itália, Colômbia e Brasil e parcerias em muitos outros países.¹ O GTM é uma indústria que engloba todo o ciclo do medicamento, desde a sua investigação e desenvolvimento, passando pela produção, até à sua promoção e comercialização.

Relativamente à comercialização, o Departamento de Marketing (DMK) do GTM é constituído por 4 unidades de negócio:

- Tecnimede, com um portefólio de Medicamentos Sujeitos a Receita Média e medicamentos inovadores²;
- *Tender & Hospital Business*, responsável pela comercialização de produtos em ambiente hospitalar³;
- Tecnigen, uma unidade de genéricos que resulta da união da Farmoz e Pentafarma⁴;
- Tecnimede *Consumer Healthcare* (TMCH).

Esta última unidade de negócio foi criada em 2016 com o grande objetivo de promover a saúde e bem-estar dos consumidores.⁵ A TMCH dedica-se à comercialização de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM), Suplementos Alimentares, Dispositivos Médicos e Cosméticos, das quais destaco as seguintes marcas: Curaprox^{®6}, Magnesiocard^{®7}, Broncoliber[®] e Lisolac^{®8}.

A TMCH é composta por *Business Unit Manager*, *Product Manager* e *Trade Marketing Manager*, duas *Sales Supervisor* (norte e sul) e, seis *Sales Representative* alocados ao canal de farmácia e, por último, quatro Delegados de Informação Médica (DIM) de visita a clínicas dentárias.

3. Análise SWOT

Através da análise SWOT irei apresentar os pontos fortes, fracos, oportunidades e ameaças com que me deparei no decurso do meu estágio na TMCH. Por um lado, os pontos fortes e fracos refletem os fatores internos à empresa, e por outro lado, as oportunidades e ameaças, integram-se numa perspetiva externa e que, por isso, não se encontram sob diretamente sob a sua influência.



3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Onboarding e integração dos estagiários

No primeiro dia de estágio, de forma a integrar e acolher os novos estagiários do GTM, o Departamento de Recursos Humanos preparou uma sessão de *Onboarding*. Aliada a um ambiente mais informal, foi-nos transmitida a história, missão e valores da empresa, a sua organização, bem como os principais produtos produzidos e comercializados pelo GTM.

Adicionalmente, o dia contou com diversas formações relativas a *Good Manufacturing Practices*, *Marketing*, *Farmacovigilância* e *Desenvolvimento de Negócio*. Sem dúvida que conhecer a harmonia entre os diversos processos que compõem o ciclo de vida do medicamento é fundamental para o sucesso do trabalho desempenhado, e por isso, estas formações acabaram por ser bastante proveitosas para me familiarizar com o trabalho desenvolvido noutros departamentos, para além do escolhido por mim.

Este primeiro dia constituiu um ponto bastante positivo e foi uma peça chave na minha integração e motivação.

3.1.2. Equipa TMCH

A equipa TMCH é composta por uma equipa jovem, dinâmica e muito profissional que desde cedo me acolheu e integrou a 100%. A sua prontidão para me transmitirem todos os conhecimentos e a sua inteira disponibilidade e paciência para responder a todas as minhas dúvidas foram essenciais para uma aprendizagem consolidada. O bom ambiente que encontrei

na TMCH aliado ao profissionalismo, espírito de equipa e ambição em melhorar, fizeram-me sentir motivada para corresponder às expectativas e crescer a nível profissional e pessoal. Adicionalmente, vale a pena destacar todos os momentos de *teambuilding* que contribuíram significativamente para a minha adaptação.

3.1.3. Diversidade de tarefas e autonomia

Numa primeira fase, o meu estágio baseou-se no estudo e posterior realização de testes acerca dos principais produtos comercializados pela TMCH: Curaprox[®], Magnesiocard[®] (MNSRM), Lisolac[®] (Suplemento Alimentar) e Broncoliber[®] (MNSRM). Devido ao vasto portefólio de produtos, este primeiro contacto foi essencial para o posterior sucesso das minhas tarefas.

Seguiram-se tarefas das quais destaco as mais rotineiras como, o apoio ao consumidor relativamente à marca Curaprox[®]; desenvolvimento de novos materiais comerciais, bem como a sua colocação em *compliance*, através de um trabalho com o Departamento Médico, Regulamentar e Jurídico; Assistência na gestão de acordos tripartidos, isto é, um acordo entre o Laboratório (neste caso, TMCH), o armazenista e a farmácia; entre outras funções.

Todas as tarefas que me foram delegadas foram surgindo de forma gradual e com o apoio por parte da restante equipa, contribuindo para um constante processo de aprendizagem e autonomia sempre aliadas a um pensamento crítico sobre as tarefas. No entanto, quero reforçar a confiança que a equipa TMCH depositou em mim ao longo dos 3 meses de estágio, atribuindo-me tarefas relevantes, o que me fez sentir valorizada e parte integrante da equipa.

3.1.4. Desenvolvimento de capacidades tecnológicas – O papel do *Microsoft Excel*

Atualmente, é indiscutível a importância que as ferramentas tecnológicas apresentam em qualquer empresa, transformando-se em competências essenciais para o desempenho eficaz do trabalho. Desse modo, ferramentas como o *Microsoft Word*, *Microsoft PowerPoint* e *Microsoft Excel*, tornaram-se numa parte integrante do quotidiano profissional. O meu caso não foi exceção, e desde cedo que me deparei com a necessidade de me familiarizar rapidamente com essas ferramentas, especialmente com o *Microsoft Excel* que, até à data, não tinha muitos conhecimentos.

O *Microsoft Excel* revela-se, deste modo, com uma ferramenta complexa, e a qual exigiu a minha rápida autoaprendizagem. No entanto, destaco como um ponto forte pelo facto de

quando dominada, facilita significativamente as tarefas diárias, que de outra forma, seriam bastante trabalhosas e demoradas.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Pouco contacto com ferramentas de análise de mercado

A análise de mercados nacionais é uma tarefa fundamental para o conhecimento da concorrência, compreensão da dinâmica do negócio e para a tomada de decisões estratégicas, com o objetivo de garantir o sucesso das marcas comercializadas.

Ao longo do meu EC, desempenhei inúmeras e variadas funções que me deram uma perspetiva global do trabalho desenvolvido e da importância do DMK na Indústria Farmacêutica. No entanto, destaco como um ponto fraco a falta de experiência na realização de análises de mercado, tal como seria esperado considerando a área envolvida. Assim, apesar de me ter sido transmitida uma visão geral das variadas funções das ferramentas de análise de mercado, como é o caso do *Health Market Research* (HMR), não tive a oportunidade de trabalhar com essas ferramentas de forma autónoma. Nesse sentido, não foi possível desenvolver as minhas competências de elaboração de análises de mercado, subsequente interpretação dos dados e aplicação prática no trabalho diário.

Deste modo, considero que este constituiu o único ponto fraco do meu estágio devido à relevância que o HMR, entre outras ferramentas de análise de mercado, apresenta no rumo do trabalho desenvolvido no DMK.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Participação em eventos

Nomeadamente no que concerne à marca de saúde e higiene oral Curaprox[®], são vários os eventos realizados ao longo do ano pela própria TMCH, mas também a sua participação em eventos externos à empresa.

Um dos eventos realizados pela TMCH que tive a oportunidade de participar foi o Curasessions, um dia científico promovido pela Curaprox[®] dedicado a Médicos Dentistas (Anexo I). Destaco este evento não só pela oportunidade de obter conhecimentos na área da saúde e higiene oral, mas também como a oportunidade de estar envolvida na organização e gestão do mesmo. Para além de acompanhar de perto todo o trabalho que é necessário para um evento de grandes dimensões, exigiu a aplicação prática de capacidades de comunicação, trabalho em equipa, atenção ao detalhe e resolução de problemas.

Relativamente à participação em eventos externos à TMCH, destaco a oportunidade de participar nas 36^a Jornadas de Medicina Oral da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa. Para além das palestras que ocorriam ao longo do dia, o evento era marcado pelo seu dinamismo com recurso a *stands* de diversas marcas e empresas na área da saúde e higiene oral. Nestas Jornadas, a TMCH marcou a sua presença através da marca Curaprox[®]. Juntamente com outros colegas da equipa, tive o prazer de estar presente neste evento e de apresentar os produtos da marca, bem como o esclarecimento de dúvidas e curiosidades que surgiram por parte dos participantes. Destaco o enriquecimento dos meus conhecimentos acerca dos produtos Curaprox[®], resultante de um estudo aprofundado dos mesmos e, para além disso, revelo o impacto positivo no desenvolvimento das minhas capacidades de comunicação com o público.

3.3.2. Acompanhamento em visitas a farmácias

Tal como mencionado anteriormente, a equipa TMCH é constituída por *Sales Representative* alocados ao canal das farmácias, para apresentar os produtos TMCH, mas também para realizar visitas comerciais; e por DIM que contactam diretamente com clínicas dentárias, médicos dentistas e higienistas orais, no que diz respeito à marca Curaprox[®].

Logo no segundo dia do meu EC, tive a oportunidade de acompanhar um delegado em visitas a farmácias. Este dia foi marcado por visitas comerciais (*sell in*), que se focam na comunicação das campanhas comerciais ativas no momento. Considero que, apesar de apenas ter tido a oportunidade de realizar este acompanhamento durante um dia, esta foi uma experiência bastante enriquecedora.

Foi uma enorme oportunidade que me permitiu ter um contacto bastante próximo com a parte comercial e alargar o meu leque de possíveis saídas profissional dentro da área de *marketing*.

3.3.3. Visita às instalações da *Atlantic Pharma* e *Profarin*

Para além do DMK e de todos os outros departamentos que constituem a empresa Tecnimede, existem outras unidades necessárias ao ciclo de vida dos produtos farmacêuticos. De modo a ter uma visão geral de todas essas etapas, foi-me dada a oportunidade de visitar a fábrica e armazéns da *Atlantic Pharma* bem como o armazém do operador logístico da TMCH, a *Profarin*. A *Atlantic Pharma* é a unidade de produção que assegura as necessidades do GTM e, ainda, de outros parceiros, através do fabrico de sólidos, semi-sólidos, líquidos e

suspensões.⁹ Dotada de equipamentos modernos, processos robotizados capazes de produzir por dia milhares de produtos, a visita à *Atlantic Pharma* fascinou-me bastante.

Para além disso, tive a oportunidade de realizar uma visita à Profarin, um operador logístico e distribuidor de produtos farmacêuticos para farmácias, grossistas farmacêuticos e hospitais.¹⁰ Neste caso, foi possível visualizar todos os passos desde receção dos produtos e armazenamento, passando pela etiquetagem e elaboração de packs promocionais e ainda preparação para distribuição.

3.3.4. Rede de contactos

O DMK apresenta um contacto bastante próximo a nível interno com outros departamentos, como é o caso do Departamento Médico, Jurídico e Regulamentar na aprovação dos diversos materiais promocionais, do Departamento de Logística e do Departamento de *Out-Licensing*, mas também externamente com as mais variadas agências de *Design*, Gráficas, Distribuidores grossistas, entre outras entidades. Considero que o dinamismo do trabalho desenvolvido é uma excelente oportunidade de contactar com diferentes pessoas fora do próprio departamento e alargar a rede de contactos.

3.4. Ameaças

3.4.1. Período de estágio reduzido

A oportunidade que a FFUC oferece aos seus estudantes da realização de um EC na Indústria Farmacêutica é um fator extremamente positivo e diferenciador no momento de entrada no mercado de trabalho. No entanto, considero que a duração do EC de apenas três meses não é compatível com o trabalho realizado numa Indústria Farmacêutica, que se caracteriza pela sua dinâmica a longo prazo.

Considerando a minha experiência no âmbito do DMK, existiram diversas tarefas nas quais não consegui participar, devido à discrepância temporal entre o período do meu estágio (maio a julho) e a ocorrência desses processos, bem como devido à limitação imposta pela curta duração do estágio e as durações prolongadas das tarefas. Entre eles destaco as Reuniões de Ciclo, que ocorreram fora do período do meu estágio, bem como certos eventos organizados pela TMCH, tais como o iTOP (*Individually Trained Oral Prophylaxis*); A definição de planos de *marketing* e planos de ação, fundamentais nesta área, mas que ocorrem apenas no final de cada ano; Lançamentos de novos produtos, que são processos bastante prolongados;

Impossibilidade de acompanhar todo o processo de desenvolvimento de campanhas e ações promocionais, desde a sua criação à implementação; entre outros.

Não obstante, considero que estes três meses foram cruciais para o desenvolvimento das minhas capacidades profissionais e pessoais, e posso afirmar que acabo este EC extremamente satisfeita com este percurso.

3.4.2. Falta de conhecimentos teóricos na área de *marketing*

As saídas profissionais que o MICF oferece são inúmeras, o que pressupõe um plano de estudos bastante abrangente. No caso da área escolhida para realizar o meu EC – *Marketing* – esta é uma área pouco aprofundada no plano de estudos, sendo abrangida quase unicamente pela Unidade Curricular de Comunicação e Marketing Farmacêutico. Por esta razão, apenas confere uma visão geral e não uma aquisição aprofundada de conhecimentos.

Desde o primeiro dia do meu EC que me deparei com uma falta de conhecimentos teóricos na área de *marketing*, principalmente a nível de conceitos utilizados pelo resto da equipa. Isto teve impacto no meu progresso e numa adaptação inicialmente mais complicada, por não conseguir acompanhar totalmente os temas abordados nas reuniões.

3.4.3. Abrangência da área de *marketing* a diversos profissionais

Atualmente, no que diz respeito à Indústria Farmacêutica, e mais especificamente, em relação à área de *marketing*, existe uma grande competitividade entre profissionais com as mais variadas formações académicas.

O farmacêutico é um profissional especialista do medicamento e, por isso, deve ser capaz de trabalhar em todo o seu ciclo. Com uma população cada vez mais informada e centrada na sua saúde e bem-estar, o mundo dos suplementos e MNSRM têm vindo a ocupar uma posição bastante elevada no mundo farmacêutico. Isto pressupõe o entendimento das necessidades e preferências dos consumidores pelo que a área das ciências farmacêuticas não é apenas sobre tratamento e prevenção, mas também sobre inovação e empreendedorismo.

Apesar da área de *marketing* ser uma possível saída profissional do MICF, considero que o plano de estudos apresenta algumas falhas a nível da formação em *Marketing*, *Gestão* e *Economia*, o que se pode tornar numa desvantagem no momento de entrada no mercado de trabalho, em comparação a outros profissionais. Deste modo, para ultrapassar esta lacuna de conhecimentos, será necessária uma maior especialização, de modo estar à altura da exigência do mercado de trabalho.

4. Considerações Finais

A oportunidade que a FFUC oferece de realizar um estágio em Indústria Farmacêutica é, sem dúvida, uma mais-valia para o desenvolvimento de profissionais de sucesso, num mundo profissional cada vez mais competitivo. No meu caso, a oportunidade de estagiar no GTM, multinacional farmacêutica com um enorme prestígio, alargou os meus horizontes em relação ao papel que um farmacêutico pode desempenhar na Indústria Farmacêutica e ofereceu-me uma experiência única e que contribuiu de forma inigualável para o meu futuro pessoal e profissional.

Terminado o meu EC no GTM, e próxima do fim do meu percurso académico, posso afirmar que esta foi uma das experiências mais marcantes ao longo destes cinco anos e hoje, acabo ciente de que o GTM, em especial a TMCH, foi a escolha certa para terminar o meu percurso enquanto estudante. Estou extremamente satisfeita com o decorrer destes três meses extremamente desafiadores, mas também bastante gratificantes e enriquecedores.

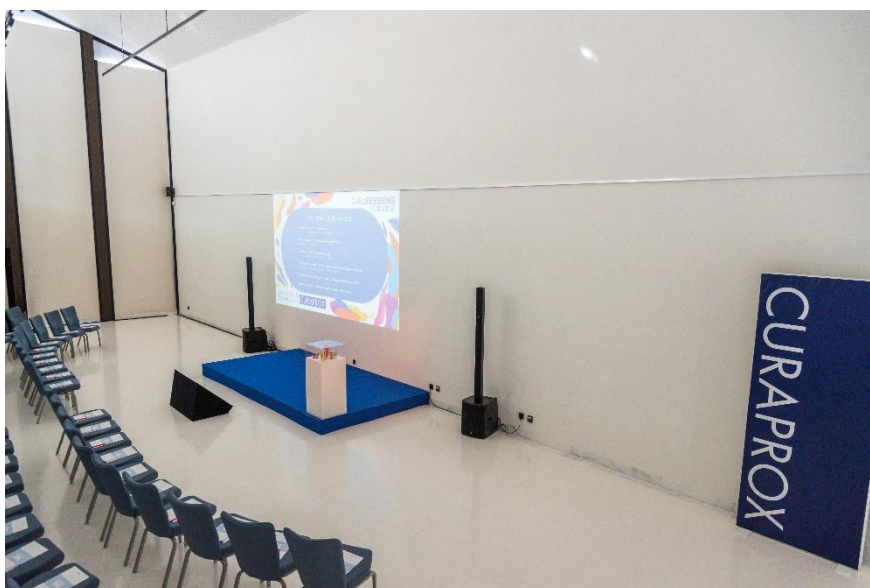
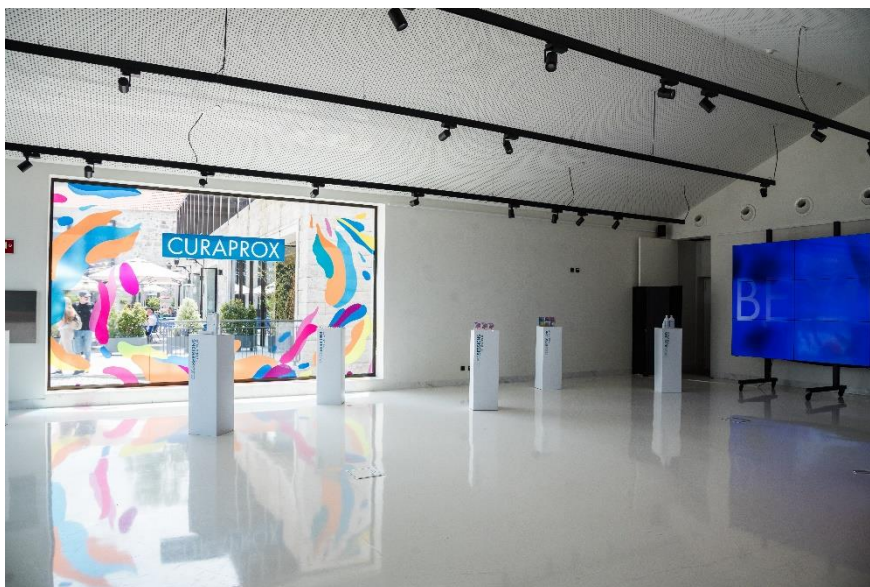
Por último, deixo o meu mais sincero obrigada à equipa da TMCH, em especial à Dr. Inês Cardoso, Dr. Madalena Duarte e Dr. Madalena Cruz, que me receberam de braços abertos, confiaram em mim e me fizeram sentir parte da equipa desde o primeiro dia. Tive o grande privilégio de cruzar caminho com uma excelente equipa que me inspirou e contribuiu para me moldar enquanto profissional. Sem dúvida que o enorme sucesso que atribuo a este estágio não tinha sido possível sem esta excelente equipa!

5. Bibliografia

1. **Tecnimedede Grupo | Homepage** - [Consult. 10 ago. 2023]. Disponível em: <https://www.tecnimedede.com/pt-pt>
2. **Tecnimedede | Tecnimedede** - [Consult. 15 ago. 2023]. Disponível em: <https://www.tecnimedede.com/pt-pt/tecnimedede>
3. **Tender & Hospital Business | Tecnimedede** - [Consult. 15 ago. 2023]. Disponível em: <https://www.tecnimedede.com/pt-pt/tender-hospital-business>
4. **Tecnigen | Tecnimedede** - [Consult. 15 ago. 2023]. Disponível em: <https://www.tecnimedede.com/pt-pt/tecnigen>
5. **Tecnimedede Consumer Healthcare | Tecnimedede** - [Consult. 15 ago. 2023]. Disponível em: <https://www.tecnimedede.com/pt-pt/tecnimedede-consumer-healthcare>
6. **Saúde Oral da Suíça | CURAPROX-Shop Portugal** - [Consult. 15 ago. 2023]. Disponível em: <https://curaprox.pt>
7. **Magnesiocard — a energia certa para si** - [Consult. 15 ago. 2023]. Disponível em: <https://magnesiocard.tecnimedede.com>
8. **LISOLAC — Facilita a digestão da lactose** - [Consult. 15 ago. 2023]. Disponível em: <https://www.lisolac.pt>
9. **Atlantic Pharma | Tecnimedede** [Consult. 18 ago. 2023]. Disponível em: <https://www.tecnimedede.com/pt-pt/atlantic-pharma-0>
10. **Profarin** - [Consult. 18 ago. 2023]. Disponível em: <https://www.profarin.pt>

ANEXO

ANEXO I | Curasessions, um evento científico promovido pela Curaprox® realizado no dia 27 de maio na Galeria WOW – World of Wine no Porto.



Parte III
Monografia

**“The Role of Blood-Brain Barrier in Alzheimer’s disease:
From dysfunction to recovery”**

Abstract

The blood-brain barrier (BBB) is a highly specialized interface with unique characteristics that maintains brain homeostasis. BBB plays a key role in central nervous system diseases, such as Alzheimer's Disease (AD), one of the most common neurodegenerative diseases and the main form of dementia in the elderly. This disease is neuropathologically characterized by the extracellular accumulation of amyloid- β and intraneuronal neurofibrillary tangles of hyperphosphorylated tau proteins. However, in addition to the traditional hallmarks, recent research is beginning to consider the dysfunction of the BBB as another plausible cause of AD. In AD, the BBB becomes compromised, leading to increased permeability, the build-up of amyloid- β plaques and infiltration of neurotoxic molecules into the brain. This causes neuronal loss, contributing to cognitive impairment as well as other non-specific manifestations such as behavioral and mood changes. Given the progressive and debilitating nature of AD, effective disease-modifying treatments need to be addressed. However, several challenges must be overcome, of which drug delivery across the BBB stands as the major one. This review provides an analysis of the role of the BBB in AD, from its dysfunction to potential recovery. It highlights the role of endothelial cells, pericytes, astrocytes, and basement membrane in healthy and diseased brain. By unraveling the complex relationship between BBB and AD pathology, new therapeutic strategies can be developed to restore its integrity and to improve the outcomes for individuals affected by this devastating disease.

Keywords: Alzheimer's Disease; blood-brain barrier; brain dysfunction; brain drug delivery; therapeutic targets.

Resumo

A barreira hematoencefálica (BHE) é uma barreira altamente especializada com características únicas que mantêm a homeostase cerebral. Esta barreira desempenha um papel fundamental nas doenças do sistema nervoso central, como é o caso da doença de Alzheimer (DA) – uma das doenças neurodegenerativas mais comuns e a principal forma de demência nos idosos. Esta doença é caracterizada neuropatologicamente pela acumulação extracelular do peptídeo β -amilóide e, ainda, por tranças neurofibrilares intraneuronais compostas pela proteína tau hiperfosforilada. No entanto, para além dos marcadores tradicionais, estudos recentes têm vindo a considerar a disfunção da BHE como outra possível causa para o desenvolvimento da DA. Nesta doença, há um comprometimento da BHE devido ao aumento da sua permeabilidade, acumulação de placas amilóides e infiltração de moléculas neurotóxicas no cérebro. Consequentemente ocorre morte neuronal, que contribui para o comprometimento cognitivo bem como para outras manifestações não específicas, tais como alterações comportamentais e de humor. Dada a natureza progressiva e debilitante da DA, torna-se essencial o desenvolvimento de tratamentos eficazes capazes de modificar o decurso da doença. No entanto, é necessário ultrapassar diversos desafios, nomeadamente a passagem dos fármacos através da BHE. Nesta monografia é feita uma análise do papel da BHE na DA, desde sua disfunção até à sua possível recuperação. Destaca-se o papel preponderante das células endoteliais, pericitos, astrócitos e membrana basal em condições fisiológicas e de doença. Assim, ao conhecer a complexa relação entre esta barreira e a patologia da DA, será possível o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas capazes de restaurar integridade da BHE e melhorar a saúde e bem-estar dos indivíduos afetados por esta devastadora doença.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer; barreira hematoencefálica; disfunção cerebral; administração de fármacos no cérebro; alvos terapêuticos.

List of Abbreviations

AD – Alzheimer's Disease

ADAD – Autosomal-Dominant Alzheimer's Disease

AJ – Adherens Junctions

APOE – Apolipoprotein E

APP – Amyloid Precursor Protein

AQP4 – Aquaporin-4

A β – Amyloid- β

BACE1 – β -secretase

BBB – Blood-Brain Barrier

BEC – Brain Endothelial Cell

BM – Basement membrane

CBF – Cerebral Blood Flow

CNS – Central Nervous System

CSF – Cerebrospinal Fluid

CypA – Cyclophilin A

DHA – Docosahexaenoic acid

EMA – European Medicines Agency

EOAD – Early Onset Alzheimer's Disease

ET-1 – Endothelin-1

GABA – Gamma-aminobutyric Acid

GLUT1 – Glucose Transporter Protein Type 1

ICAM-1 – Intercellular Adhesion Molecule 1

IDE – Insulin-degrading Enzyme

IL – Interleukin

JAM – Junctional Adhesion Molecules

LOAD – Late-Onset Alzheimer's Disease

LRP1 – Lipoprotein Receptor-Related Protein-1

MEOX2 – Mesenchyme Homeobox 2

MFSD2A – Major Facilitator Superfamily Domain-Containing Protein 2a

MMP – Matrix Metalloproteinase
NEP – Neprilysin
NF- κ B – Nuclear Factor κ B
NMDA – N-methyl-D-aspartate
NO – Nitric oxide
NVU – Neurovascular Unit
PDGF-B – Platelet-derived growth factor B
PDGFR β – Platelet-derived growth factor receptor beta
PECAM – Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule
PET – Positron Emission Tomography
P-gpI – P-Glycoprotein I
PICALM – Phosphatidylinositol Binding Clathrin Assembly Protein
PSEN1 – Presenilin 1
PSEN2 – Presenilin 2
p-Tau – Phosphorylated Tau
PXR – Pregnane X receptor
RAGE – Receptor for Advanced Glycation End Products
ROS – Reactive Oxygen Species
SIP – Sphingosine-1-phosphate
SIPRI – Sphingosine-1-phosphate Receptor I
TEER – Trans-Endothelial Electrical Resistance
TGF- β – Transforming growth factor- β
TJ – Tight Junctions
TNF- α – Tumor Necrosis factor-alpha
VCAM-1 – Vascular Cell Adhesion Molecule 1
VE-cadherin – Vascular endothelial-cadherin
VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor
VLDLR – Very-Low-Density Lipoprotein Receptor
ZO-1 – Zonula Occludens-1

I. Introduction

Dementia is a slow and progressive syndrome that primarily affects cognitive function. It impacts memory, thinking, comprehension, language and learning capacities and additionally, can cause mood and behavioral changes.¹ This syndrome encompasses an enormous spectrum of neurological diseases of which Alzheimer's Disease (AD) stands out, contributing for 60 to 70% of the cases.² Since 1907, when Alois Alzheimer reported the first case of AD, this pathology has brought significant impacts to patients' lives, encompassing not only physical and psychological aspects but also social and economic dimensions. Thus, AD has become the seventh cause of death among all diseases, accordingly to recent data published by the World Health Organization.^{2,3}

At a pathological level, the AD brain is fundamentally characterized by the accumulation of Amyloid- β (A β) peptides in plaques and the formation of neurofibrillary tangles containing hyperphosphorylated tau, which consequently is responsible for neuronal cell death, also known as neurodegeneration.⁴ However, in the last years, more pathological causes have been unveiled, recognizing the close relationship between the blood-brain barrier (BBB) dysfunction and the onset and progression of AD.^{5,6} The BBB plays an important role in the homeostasis of the Central Nervous System (CNS) because it tightly controls the movement of molecules that cross the brain, preventing the entrance of certain neurotoxic molecules into the CNS. However, this highly specialized barrier is also accountable for intercepting drug delivery to the brain, which turns out to be a huge adversity in the development of effective therapeutics for neurological diseases. In the last decade, multiple studies have focused on the causes and consequences of changes in BBB components and how they contribute to the development of neurodegenerative pathologies such as AD.⁷

Currently, dementia is a burden in public health affecting 55 million people, a number that tends to increase in the next years.² To slow down the curve, further investigation becomes necessary to explore some unanswered issues: 1) BBB changes both upstream and downstream of the onset of AD; 2) The consequences that these changes have in drug delivery to the CNS; 3) Potential pharmacological targets to recover the BBB's normal function.⁸

Firstly, this review describes the pathophysiological modifications occurring in the components of the BBB in a disease context. Secondly, it provides an overview of the implications of BBB disruptions on drug delivery and explores potential strategies to overcome these challenges. Finally, it highlights possible approaches to use the BBB as a therapeutic target to restore the barrier's normal function.

2. Alzheimer's Disease: Characterization and Physiopathology

AD is a multifactorial neurodegenerative disorder with an irreversible character to the date, greatly impacting the normal daily activities of those suffering from it and placing a significant burden on their families and caregivers.¹

This disease begins long before it is diagnosed, with an "invisible" or preclinical phase that can start about 20 years before the symptoms appear. In this phase, the brain already presents abnormal levels of A β and changes in tau protein, revealed in positron emission tomography (PET) imaging. On the other hand, the "visible" or clinical phase typically lasts an average of 8-10 years and progresses relentlessly until death, not directly from the condition itself, but rather from complications related to it.⁹ When individuals reach the severe Alzheimer's dementia stage, they start losing communication and movement skills and become more vulnerable to other health problems like blood clots, infections, and aspiration pneumonia which contribute to mortality and morbidity.¹

Late-onset Alzheimer's Disease (LOAD) is the most prevalent type of AD accounting for more than 95% of all cases and affects people over the age of 65, typically those over 80 years of age. This sporadic form manifests as a slowly progressive amnesic disorder and is often linked with apolipoprotein E (APOE) ϵ 4 allele polymorphism.^{1; 10} In fact, even though the ϵ 4 allele is usually found in about 13.7% of people worldwide, according to some lines of evidence, 40% of the patients with AD have the ϵ 4 allele.¹¹ On the other hand, Early-Onset Alzheimer's Disease (EOAD) includes an atypical non-amnesic phenotype that affects language, visual-spatial, executive, and behavioral functions.¹² It is accounting for less than 5% of the cases and usually affects individuals at a younger age, with an average onset of 45 years of age.^{13; 14} Generally, it has a faster cognitive decline than LOAD. An Autosomal-Dominant Alzheimer's Disease (ADAD) or also known as familial AD, is responsible for less than 1% of early-onset cases and it is related to mutations in amyloid precursor protein (APP), presenilin 1 (PSEN1) and presenilin 2 (PSEN2) genes.¹⁵

Although there is multiple scientific hypothesis that can explain the physiopathology of this disease, three interconnected components – A β , Tau protein, and APOE – are considered fundamental for the development of AD.⁹ The amyloid hypothesis remains as the dominant pathophysiological theory¹⁶, proposing that the accumulation and building-up of A β is responsible for the development and progression of AD. Under normal physiological conditions, A β peptide is a byproduct generated by the metabolic processing of APP. This processing predominantly occurs via the non-amyloidogenic pathway, which involves cleavage

by α -secretase.¹⁷ During pathological states, APP may undergo sequential proteolytic cleavage by the enzymes β -secretase (BACE1) and γ -secretase (comprised of PSEN1 and PSEN2, along with other associated protein subunits) - amyloidogenic pathway - resulting in the production of the A β peptide among other fragments.^{13; 18} The distinction between a healthy brain and the onset of AD starts with an alteration in the conformational structure of A β and to its abnormal accumulation, leading to inflammatory and immune responses that contribute to neurodegeneration. Additionally, it has been demonstrated that A β toxic plaques can trigger tau pathology, characterized by the abnormal accumulation of tau protein in the brain. Tau is predominantly present in the cytoplasm of axons and it is responsible for microtubules stabilization. Phosphorylation reactions can lead to the dissociation of tau from the microtubules and to the intracellular aggregation of tau oligomers, another pathological hallmark of AD.¹⁹

Furthermore, APOE is a protein produced by astrocytes and microglia in the brain, playing a role in lipid transport to neurons. According to several studies, APOE plays an important role in A β brain clearance. Whereas APOE ϵ 2 allele and APOE ϵ 3 allele have a role mediating A β clearance through lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP1) in neurons, APOE ϵ 4 allele has a lower affinity for LRP1, preferentially binding to the very-low-density lipoprotein receptor (VLDLR), which results in a slower clearance of A β .²⁰ Moreover, APOE ϵ 4 utilizes additional mechanisms that contribute to the accumulation of A β . These mechanisms include the modulation of γ -secretase activity²¹, the reduction in enzymatic degradation of A β through neprilysin (NEP) and the insulin-degrading enzyme (IDE), and the promotion of A β aggregation, thereby reinforcing the stability of A β oligomer formation.²² APOE can additionally impact AD pathology via A β -independent mechanisms involving tau, neuroinflammation and cerebrovascular integrity.^{23; 24} Indeed, this evidence supports that individuals carrying the ϵ 4 allele have a higher risk of developing EOAD.^{25; 26; 27}

3. Blood-Brain Barrier: Architecture and Mechanisms in Health and Disease

The BBB is the main barrier that protects the brain and maintains CNS homeostasis.^{28; 29} This highly selective system comprises, among other elements, all the blood vessels that supply the CNS. It separates the bloodstream from the brain's extracellular fluid, with the aim of protecting the brain from blood cells, plasma neurotoxic components, pathogens and other harmful substances.^{30; 31} Through the tightly sealed endothelium cells it restricts paracellular and transcellular permeability, but it contains specific transporters that allow exchanges of

nutrients and metabolites. It is noteworthy that only small lipophilic molecules with a molecular weight <400 Dalton or molecules with <8 hydrogen bonds, and gases like oxygen and carbon dioxide can diffuse across the brain endothelium.³² Furthermore, this dynamic and semipermeable barrier also plays a role in immune responses and metabolic wasting products removal.³³ Various transport pathways beyond passive diffusion are presenting in BBB, including active efflux transport, carrier-mediated transport for low molecular weight organic molecules and receptor-mediated transport for the transport of macromolecules such as antibodies or protein ligands.³⁴ Understanding how transporting mechanisms work is crucial for designing ligands or conjugating drugs with ligands that can bind to these receptors, enabling effective therapeutic delivery to the brain.

Additionally to the blood vessels, the BBB comprises glial cells (astrocytes, microglia and oligodendrocytes) pericytes, vascular smooth muscle cells, endothelial cells and neurons, forming all together the Neurovascular Unit (NVU), illustrated in figure 1.⁸ NVU's cells play a crucial role in regulating the rate of cerebral blood flow (CBF), which in turn has a significant impact on brain function. The proper functioning of the brain relies on the presence of an interplay between healthy blood vessels and a well-functioning cardiovascular system.³⁵ Consequently, any damage or impairment to the NVU can lead to irreversible changes within a matter of minutes.

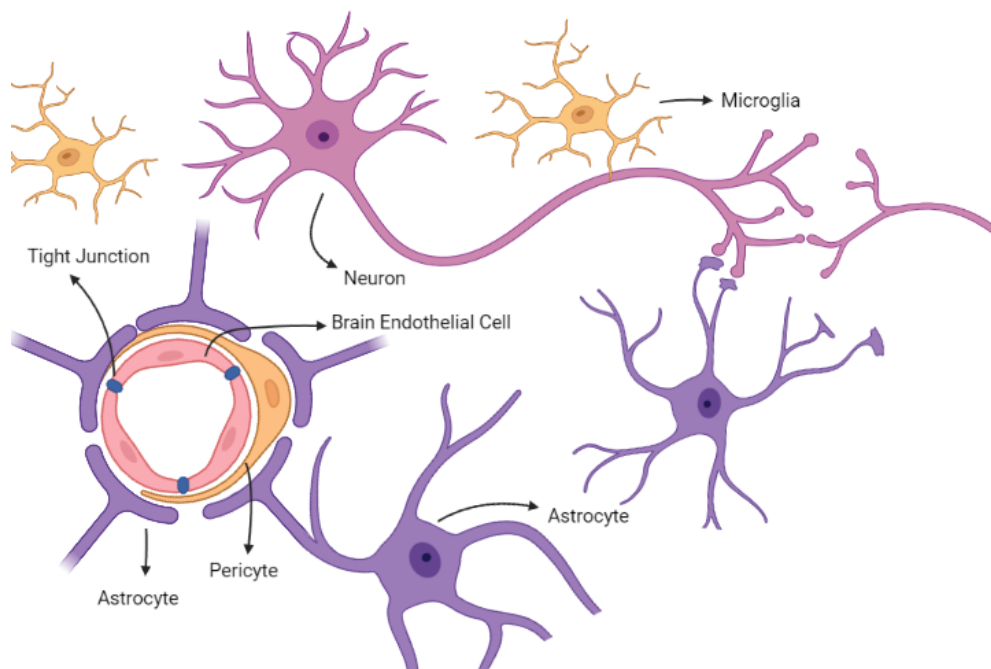


Figure 1 | Blood-Brain Barrier Structure

The blood-brain barrier (BBB) is primarily composed of endothelial cells that exhibit specialized characteristics and physiological properties. These unique features are developed and sustained through the influence of the surrounding environment. The relationship between endothelial cells, astrocytes, pericytes, and neurons forms a complex multicellular system referred to as the neurovascular unit (NVU), that maintains BBB integrity and functionality.

It is well-known that BBB dysfunction is a phenomenon that occurs as a part of the aging process.³² The morphological deterioration that occurs in healthy aging involves changes in brain endothelial cells (BEC), tight junction (TJ) proteins, transport pathways and other cellular elements. However, this natural dysfunction can be further exacerbated in numerous neurodegenerative disorders, in particular AD. Figure 2 illustrates the difference between a healthy and a pathological brain.

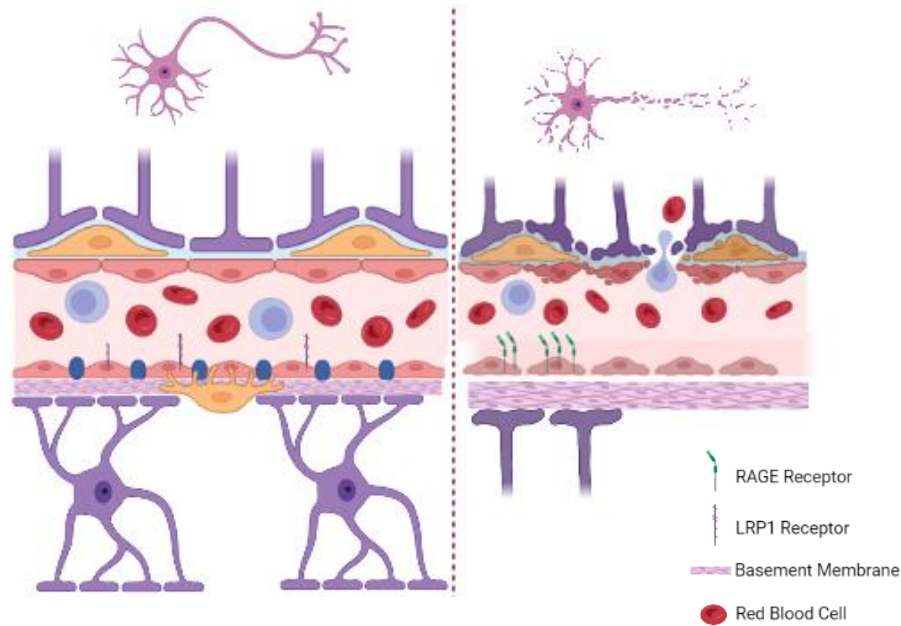


Figure 2 | Blood-Brain Barrier (BBB) in health and disease

The BBB is illustrated in its normal state (left) and during pathological conditions such as Alzheimer’s Disease (AD) (right). In AD, there is a degeneration of pericytes, astrocytes, and endothelial cells. The basement membrane composition undergoes modifications that lead to its thickening. This is accompanied by a loss of tight and adherens junctions, as well as a decreased expression of transporters like Lipoprotein Receptor-Related Protein-1 (LRP1). Additionally, there is an elevated presence of the receptor for advanced glycation end products (RAGE). These combined alterations contribute to an enhanced level of transcytosis and increased permeability within the BBB. As a result of this dysfunction, the neuroinflammation process is triggered, and there is an increased entry of pathogens and neurotoxic substances.

Several studies recognize that BBB plays a significant role in dementia and other diseases affecting the CNS. However, there are some divergent opinions on whether it is a cause or a consequence of the disease.⁷ More recently, it was proposed the two-hit vascular hypothesis of AD that supports the early role that BBB has in the onset and development of AD.³⁶ Vascular factors such as diabetes, hypertension, cardiac diseases among others, can directly influence the BBB and consequently, cause a build-up of A β , the upstream process to tau pathology. The processes leading to dementia are summarized in Figure 3. Moreover, this early role of BBB in the early stages of the disease, raises the possibility of using it as a therapeutic target.^{37; 38}

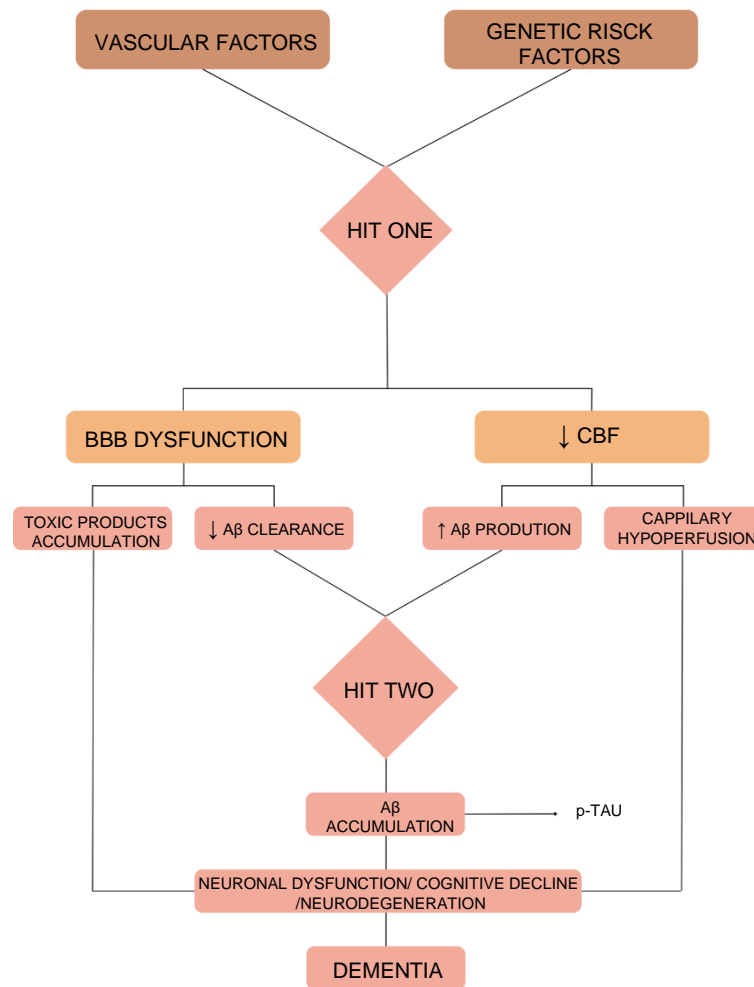


Figure 3 | The two-hit vascular hypothesis for Alzheimer’s disease (Adapted from John *et al.* ³⁶)

Aβ – Amyloid-β; BBB – Blood-brain barrier; CBF – Cerebral Blood Flow; p-Tau – Phosphorylated Tau

When the BBB breakdown occurs, toxic molecules, cells, and microbial agents can easily penetrate the BBB and start accumulating in the brain. *Post-mortem* studies revealed the presence of blood-derived proteins, specifically immunoglobulins, albumin, thrombin, and fibrin through immunohistochemistry assays. Moreover, the leaky BBB causes extravasation of red blood cells resulting in the deposition of haemosiderin (iron-containing protein), which generates reactive oxygen species (ROS).^{20, 39} This leads to serious consequences such as brain oedema, reduced CBF, inflammatory and immune responses, increased permeability, and reduced integrity. These processes initiate pathways of neurotoxicity and neurodegeneration, contributing to the progression of brain disorders.³⁶

BBB breakdown can be divided into 3 different mechanisms: 1) BBB leakage that includes capillary leakage and immune cells infiltration, mentioned above; 2) Dysregulation of BBB transporters, resulting in the accumulation of harmful substances in the brain; 3) Abnormal

secretion of proteins from BBB components leading to neuronal damage.^{7; 40} In this work, it will be presented the main underlying mechanisms contributing to BBB dysfunction and consequently to the pathophysiology of AD. Those mechanisms are summarized in Table I.

Table I | Blood-brain barrier (BBB) changes in Alzheimer’s Disease (AD)

BBB component	Morphological Changes	
	Upstream Causes	Downstream consequences
Brain Endothelial Cells (BEC)	↓ GLUT-1	↓ Glucose in the brain; neurodegeneration
	↓ LRP1; ↓ PICALM	↑ Aβ in the brain; neurodegeneration
	↓ P-gpI	↑ Aβ in the brain; neurodegeneration
	↑ RAGE	↑ Aβ in the brain; neuroinflammation; neurodegeneration
	↓ MEOX2 expression ↓ MOX2 levels	↓ Brain angiogenesis; ↓ Brain capillary density; ↓ CBF
	MFSD2A deficiency	↑ Transcytosis, ↓ DHA in brain; neurodegeneration
	↑ VCAM-1 and ICAM-1	↑ Immune cells into CNS
Tight Junctions Adherens Junctions	Activation of CypA-MMP-9	↓ TJ, AJ; ↑ BBB permeability
Pericyte	↓ PDGFRβ	↓ Brain microcirculation; neuroinflammation; neurodegeneration
	↑ Aβ; ↑ROS ↑ET-1	Capillary constriction; ↓ CBF
	Activation of CypA-MMP-9	Pericytes Loss;
Astrocytes	↑ Proinflammatory agents	↑ TJ and AJ; Endothelial inflammation; ↑ Immune cells into CNS; BBB dysfunction
	↑ Glutamate; ↑ GABA	Memory impairment
	↓ AQP4 Redistribution of AQP4	↑ Aβ ? (Controversial results)
Basement Membrane (BM)	↑ Collagen IV, perlecan, and fibronectin; Extracellular matrix thickness	↓ Vascular compliance; ↓ Brain clearance

AD – Alzheimer’s Disease; AQP4 – Aquaporin-4; Aβ – Amyloid-β; BBB – Blood-brain Barrier; BEC – Brain Endothelial Cells; Basement Membrane (BM); CNS – Central Nervous System; CBF – Cerebral Blood Flow; DHA – Docosahexaenoic acid; ET-1 – Endothelin-1; GLUT1 – Glucose Transporter Protein Type 1; ICAM-1 – Intercellular Adhesion Molecule 1; LRP1 – Lipoprotein Receptor-Related Protein-1; MEOX2 – Mesenchyme Homeobox 2; MFSD2A – Major Facilitator Superfamily Domain-Containing Protein 2a; PDGFRβ – Platelet-derived growth factor receptor beta; PECAM – Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule; P-gpI – P-Glycoprotein I; RAGE – Receptor for Advanced Glycation End Products; ROS – Reactive Oxygen Species; VCAM-1 – Vascular Cell Adhesion Molecule 1;

3.1. Brain Endothelial Cells

Brain endothelial cells (BEC) comprise the central architectural structure of the BBB. These specialized cells, characterized by a flattened morphology, form a monolayer structure that lines the inner walls of blood vessels. They are interconnected and tightly sealed through the presence of both tight and adherens junctions.²⁹ They have a unique protein polarization along the luminal and abluminal axis and express influx and efflux transporters responsible for tightly regulating the translocation of molecules between the CNS and blood circulation.⁴¹ To regulate the exchange of molecules, the surfaces of BEC are rich in numerous active efflux transporters, while vesicular transport is limited, responsible for the low transcytosis rate. Transcytosis is typically mediated by two mechanisms: clathrin-mediated and caveolae-mediated endocytosis. Clathrin-coated vesicles are responsible for internalizing a wide range of molecules and cells that bind to specific receptors on the cell surface. On the other hand, caveolae are involved in the transport of albumin and immune cells.⁴²

Concerning AD, multiple research data have indicated a decreased expression of various transporters, as exposed in this chapter.^{30; 33} Glucose transporter protein type I (GLUT1) is responsible for transporting glucose into the cells, providing energy for the CNS and maintaining brain cognition, through a process called facilitated diffusion. AD studies using imaging methods as ¹⁸F-fluorodeoxyglucose PET have exhibited lower levels of glucose uptake in the brain, which presupposes a reduction in GLUT1 levels.^{36; 43} Therefore, GLUT-1 downregulation is responsible for hindering glucose supply to the brain. As a result, there is a microvascular regression, reduced CBF, neurodegeneration, and cognitive impairment.^{44; 45}

Moreover, Lipoprotein Receptor-Related Protein-I (LRPI) is a key receptor-mediated endocytosis responsible for clearing A β from the brain. This process is dependent on Phosphatidylinositol Binding Clathrin Assembly Protein (PICALM), a protein that facilitates the formation of clathrin-coated vesicles involved in the transport of neurotoxic molecules across BBB, including the exocytosis of A β .⁴⁶ Both deficiency in PICALM and LRPI lower expression has been shown to accelerate the build-up of A β , leading to its accumulation.^{47; 48} However, further research is needed to fully understand the specific functions and mechanisms of PICALM in the context of the BBB. It is also important to note that reduced levels of GLUT-1 can inhibit the transcription of LRPI, through the involvement of sterol regulatory element binding protein 2.⁴⁴

The P-Glycoprotein I (P-gp1), an active efflux transporter, has been recognized to participate in A β clearance from the brain similarly to LRPI.^{49; 50} Given that the accumulation

of A β stands as a hallmark in the development of AD, it suggests a reduction in its regular clearance mechanism.^{51; 52} In fact, the multidrug-resistant transporter has been investigated *in vivo* in AD patients through the PET tracer ¹¹C-verapamil (substrate for P-gp1) suggesting a decrease in Pgp1 function.⁵¹

Another transporter that may contribute to AD dementia is the receptor for advanced glycation end products (RAGE).⁵³ In contrast with the other transporters mentioned above, RAGE is upregulated during disease, as demonstrated in studies with AD patients.⁵⁴ This transporter is responsible for allowing the entry of A β into the brain parenchyma. Additionally, its activation by A β can trigger inflammatory pathways, releasing ROS and leading to oxidative stress and neuroinflammation.^{55; 56}

Furthermore, lower expression of mesenchyme homeobox 2 (MEOX2) in BEC was correlated with abnormal brain angiogenesis.^{57; 58} MEOX2 is a gene that encodes the regulatory homeobox protein MOX2 involved in brain angiogenesis and vascular development. Findings in haploinsufficiency MEOX2 in mice indicate the development of brain hypoperfusion, reduction in brain capillary density and cell death.⁵⁷ To compensate for the reduced blood flow and hypoxic changes, there is an increased production of angiogenic factors. However, this response is insufficient to fully restore the capillary network.⁵⁹

BEC exhibit specific characteristics depending on their location within tissues. Peripheral endothelial cells demonstrate transcellular permeability, which is facilitated by features such as fenestrations. However, BEC forms a continuous lining with specialized structures resulting in significantly lower levels of transcytosis.⁶⁰ The major facilitator superfamily domain-containing protein 2a (MFSD2A), predominantly found in BEC, has an important role in the brain. Firstly, MFSD2A also acts as a carrier protein responsible for transporting phospholipids, specifically docosahexaenoic acid (DHA), which is an important nutrient for the brain.⁶¹ Secondly, the lipids transported by MFSD2A create a unique lipid composition in the BEC, which inhibits caveolae-mediated transcytosis and maintains the BBB integrity.^{60; 62; 63} Deficiency of MFSD2A in mice has been shown to result in increased transcytosis and a reduction of DHA in the brain, which contributes to neurodegeneration and cognitive deficits.⁶⁴

In normal conditions, BEC also differs from peripheral endothelial cells due to lower levels of certain adhesion molecules such as the vascular cell adhesion protein 1 (VCAM-1) and intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1). These molecules belong to the immunoglobulin superfamily and are involved in immune cell attachment, maintaining low levels of immune surveillance by immune blood cells in brain parenchyma. However, during pathological states,

VCAM-1 and ICAM1 increased levels lead to the binding of immune cells and consequently, their entrance into the CNS.⁶⁵

Genetic mutations implicated in AD also have a crucial role in the BBB breakdown and development of neurodegenerative disorders. A recent study investigated a particular familial AD mutation, specifically the PSEN1 Δ E9 mutation, and its relationship with BEC properties.⁶⁶ The researchers assessed BBB integrity by the trans-endothelial electrical resistance (TEER) method, indicating a lower integrity of the mutant BEC monolayer.

3.1.1. Adherens Junctions and Tight Junctions

On the apical membrane of BEC, tight junctions (TJ) prevent the entrance of molecules into the CNS, specifically restricting paracellular transport.^{8; 67} The crucial transmembrane proteins responsible for the formation of TJ are claudins, occludins, zonula occludens (ZO) and junctional adhesion molecules (JAM). Additionally, adherens junctions (AJ) play a crucial role in facilitating the adhesion between BEC. They are primarily localized on the basolateral membrane and are predominantly composed of cadherins and catenins and platelet endothelial cell adhesion molecule (PECAM).^{33; 68}

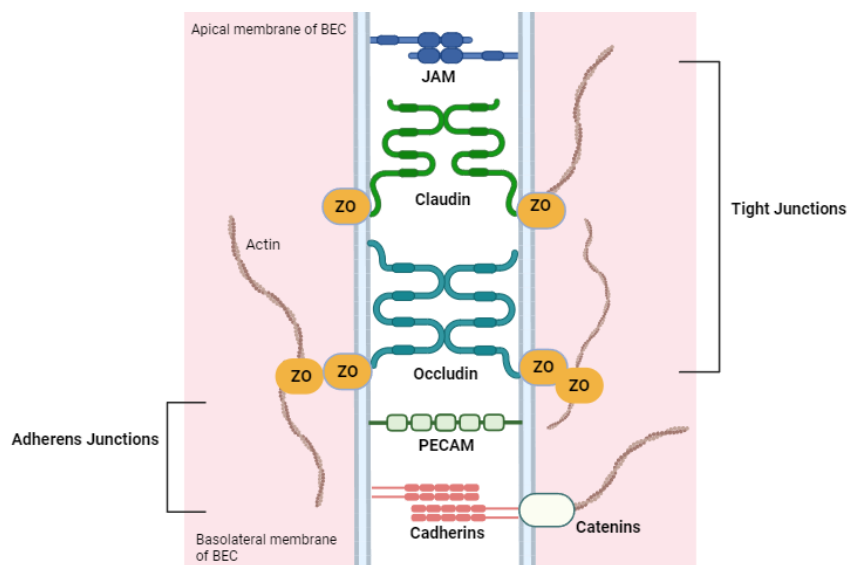


Figure 4 | Tight and Adherens Junctions

Tight junctions (TJ) are composed of proteins with four transmembrane domains like claudins and occludins, integral membrane proteins like zonula occludens (ZO), and junctional adhesion molecule (JAM). Adherens junctions (AJ) are composed of cadherin, catenin and platelet endothelial cell adhesion molecule (PECAM-1) that mediate adhesion with cytoskeleton via catenins.

It is important to note that TJ and AJ are not independent from each other. In fact, Vascular endothelial-cadherin (VE-cadherin) is responsible for control Claudin-5 expression.⁶⁹ These

junction molecules, along with cytoplasmic membrane proteins, form a multimolecular complex.

A recent study analyzing gene expression of AJ and TJ in an AD 3D *in vitro* model demonstrated a decrease in some proteins expression, such as claudin-1, claudin-5 and VE-cadherin, and Zonula occludens-1 (ZO-1) that led to an increase in BBB permeability.⁷⁰ Accordingly, the analysis of the levels of TJ proteins, claudin-5 and occludin in 12 different brain regions from *post-mortem* brains of normal ageing, pathological ageing and AD, revealed a decrease in these proteins levels in AD brains, supporting the previous results.⁷¹

TJ and AJ reduced levels can be explained by the rise up of activity of matrix metalloproteinase (MMP), which happens in many neurodegenerative disorders.³⁶ MMPs are a family of zinc-binding proteolytic enzymes that have different roles in signaling molecules like the activation of growth factors and death receptors molecules.⁷² In transgenic mice, the presence of APOE ϵ 4, the major risk factor of LOAD, leads to the activation of the proinflammatory cyclophilin A-matrix metalloproteinase-9 (CypA-MMP-9) pathway. This pathway is activated in endothelial cells and pericytes. Since TJ and Basement membrane (BM) proteins are substrates of these enzymes, excessive activation of MMP-9 leads to the degradation of the BBB components. As a result, the integrity of the BBB is compromised.^{73;}
74; 75; 76

Lastly, TJ can also suffer a change in its localization.⁷⁷ In fact, a study with BEC A β ₁₋₄₂ demonstrated a translocation to the cytoplasm.⁷⁸

3.2. Pericytes

Pericytes are associated directly with the abluminal side of blood microvessels including capillaries, pre-capillary arterioles, and post-capillary venules.⁷⁹ They play an essential role controlling key neurovascular functions like BBB formation, maintenance and permeability, vascular stability and angioarchitecture, clearance of toxic cellular byproducts, CBF regulation, neuroinflammation, and stem cell activity.^{80; 81}

Due to their residence in the BM, these specialized cells can provide support to BEC, astrocytes, and neurons. Through the release of signaling factors, pericytes can control the expression of tight and adherens junctions in BEC and the polarization of the astrocyte end-feet, highlighting their essential contribution to the overall functionality of the NVU.^{82; 83} Under inflammatory conditions, pericytes produce significant amounts of immune mediators such as proinflammatory cytokines, ROS, adhesion molecules including ICAM-1 and VCAM-1 and

MMPs, especially MMP-2 and MMP-9.⁸⁴ The increase in these immune mediators can lead to the degradation of TJ, induce neuronal cell death, recruitment and infiltration of immune cells into the brain tissue.⁴⁰

Pericyte dysfunction can influence the detachment and degeneration of microvessels leading to BBB breakdown.²⁰ In *post-mortem* human tissue affected by AD, there was a notable decrease in mural cells, particularly a significant decrease in pericyte population. This was strongly correlated with the extension of capillary leakage and breakdown of the BBB in the brain.^{85; 86} Significant decline in pericytes can be correlated with extravascular accumulation of plasma-derived proteins.⁸⁵

Platelet-derived growth factor B (PDGF-B), which is secreted by BEC, interacts with the platelet-derived growth factor receptor beta (PDGFR β) predominantly expressed in pericytes. This interaction triggers different paths of signal transduction that control the proliferation, migration, and recruitment of pericytes to the blood vessel walls.⁸⁶ Findings indicate that PDGFR β protein is found in increased levels in the Cerebrospinal Fluid (CSF) of transgenic murine models with pericyte degeneration, as well as in humans with mild cognitive impairment. Additionally, there is a correlation between PDGFR β increased levels in CSF and PDGFR β loss in pericytes.⁸⁷ The reduced expression of PDGFR β in pericytes is responsible for dysfunction in brain microcirculation, which can lead to neurodegeneration and neuroinflammation. Furthermore, findings in PDGFR $\beta^{+/-}$ mice pericytes also revealed a reduction in TJ proteins such as a reduction in ZO-1 and occludin.⁸⁶

Studies in the brains of individuals with AD demonstrated a connection between pericyte loss and increased A β accumulation.⁸⁸ A β deposition contributes to vascular dysfunction by triggering the release of proinflammatory cytokines and causing oxidative stress.⁸⁹ In both human *ex vivo* tissue and animal models it has been observed that reactive oxygen species (ROS) can trigger the release of endothelin-1 (ET-1) that causes pericyte contraction by acting on ET-1 type A receptors.⁹⁰ This results in capillary constriction and reduction of CBF.^{91; 92}

Furthermore, multiple studies have consistently shown the influence of the APOE ϵ 4 gene variant on the rapid deterioration of pericytes, leading to neurodegeneration.⁹³ In fact, individuals carrying the APOE ϵ 4 gene variant exhibit an accelerated BBB breakdown and pericyte degeneration which will have an influence on CBF reduction and a decrease in BBB integrity.⁹⁴ All these changes can be explained by the lower capacity of APOE ϵ 4 to interact with LRPI, which results in abnormal increases in Cyclophilin A protein levels, followed by

increased nuclear movement of the pro-inflammatory transcription nuclear factor factor- κ B (NF- κ B) and the activation of pericyte MMP-9.⁹⁴

3.3. Astrocytes

Astrocytes represent the predominant glial cell type of the NVU. Astrocytes, the star-shaped cells, are responsible for providing nutritional, structural, and trophic support for neurons, CBF homeostasis, neurotransmitter clearance and recycling, and control of immune reactions.⁵⁵ Astrocytes are also responsible for establishing a connection with the endothelium of blood vessels through their specialized end-feet extensions.

In AD, astrocytes have been involved in neuroinflammation and oxidative stress.⁹⁵ In fact, these glial cells are recognized for their ability to produce and release factors that actively regulate endothelial functioning contributing to maintain the integrity of BBB.⁹⁶ Certain factors such as vascular endothelial growth factor (VEGF), MMPs, nitric oxide (NO), glutamate, and ET can increase BBB permeability, dysfunction of TJ, BEC apoptosis.⁹⁶ On the other hand, astrocytes can also be responsible for the release of protective factors like angiopoietin-I, sonic hedgehog, glial cell-derived neurotrophic factor, retinoic acid, insulin-like growth factor-I, APOE, among others.⁹⁷ The angiopoietin-I promotes BEC survival and vascular stability; Sonic hedgehog, predominantly released by astrocytes, activates receptors on endothelial cells, effectively reducing BBB leakage and enhancing barrier integrity; Glial-derived neurotrophic factor not only promotes angiogenesis but also strengthens BBB function by upregulating TJ-related proteins; Retinoic acid exhibits protective effects on the BBB during inflammatory conditions and enhances the expression of essential BBB components; Insulin-like growth factor-I demonstrates neuroprotective properties by reducing BBB permeability and preventing BEC death. Additionally, APOE acts as a protective factor against BBB disruption by regulating the activity of MMP-9 and maintaining TJ protein expression. These astrocyte-derived factors play critical roles in maintaining BBB integrity and present potential therapeutic targets for various brain disorders.⁹⁸

Astrocyte reactivity and neurotoxicity has been identified in the brains of AD patients.⁹⁹ Proinflammatory agents have initially been recognized for their beneficial role in the early stages of inflammation, helping eliminate unwanted agents. However, in the progression of inflammation, these mediators can shift to a pathogenic role. *Post-mortem* analysis of AD brain tissue has revealed an increase in astrocyte-derived secretions that potentially contribute to BBB compromise by influencing the expression and localization of TJ and AJ, endothelial inflammation, and the infiltration of immune cells.¹⁰⁰ VEGF is one of these factors that play a

dual role in CNS. Firstly, it promotes angiogenesis through VEGF-A receptor activation, leading to endothelial cell proliferation and differentiation. However, in conditions characterized by CNS inflammation like AD, reactive astrocytes overexpress VEGF-A, enhancing BBB permeability.^{96; 101}

Astrocytes play a vital role in regulating synaptic function by releasing certain signaling molecules called gliotransmitters. These include neurotransmitters like glutamate, gamma-aminobutyric acid (GABA) among others. Glutamate, a major excitatory transmitter, plays a crucial role in synaptic plasticity and memory formation through receptors like N-methyl-D-aspartate (NMDA), found in neurons.⁹⁷ In normal circumstances, astrocytes efficiently clear approximately 90% of released glutamate within the CNS through specific transporters known as excitatory amino acid transporters. However, as AD progresses, there is a decrease in astrocytic glutamate uptake, creating a susceptibility to excitotoxic events. This leads to the excessive activation of NMDA receptors, causing synaptic deterioration and neuronal death.⁹⁶ Furthermore, both human and animal studies suggest an increase in GABAergic activity and GABA levels in regions adjacent to amyloid plaques. This release of GABA activates neuronal GABA receptors.^{102; 103} Consequently, the disruption of the balance between excitatory and inhibitory neurotransmitters is associated with the development of memory impairment and neurodegeneration.

Furthermore, astrocytes play a crucial role in internalizing and degrading A β . Transplanted astrocytes in the brain of AD mice clear A β deposits, through the secretion of proteases involved in A β degradation, like NEP, IDE, angiotensin-converting enzyme-1, and endothelin-converting enzyme-2.^{104; 105} Studies have focused on understanding the role of NEP in A β degradation within the brain and its relevance to AD pathology. The results reveal a decline in NEP and IDE activity. However, this reduction seems to be a consequence of neurodegeneration and emerges at a later stage, rather than being the primary causal factor.¹⁰⁶

Astrocyte specialized end-feet extensions possess specific channels and transporters, such as aquaporin 4 (AQP4).¹⁰⁷ AQP4 is strategically located to regulate the balance of water and ions at the interface between blood vessels and neurons, maintaining proper homeostasis. Furthermore, previous studies have suggested that deletion of AQP4 leads to a reduction of A β clearance and increased accumulation of A β peptides in patients with AD. Findings in mouse models using two-photon *in vivo* imaging indicated that the presence of AQP4 inhibitor increases the perivascular accumulation of A β_{40} , demonstrating a deficient clearance.¹⁰⁷ Some evidence in mouse models also suggested that the redistribution of AQP4 away from astrocytes end-feet impairs A β clearance, resulting in amyloid plaques.¹⁰⁸ However, this finding

is controversial as other observations have suggested that AQP4 redistribution is, in fact, responsible for structural plasticity. This adaptation enables astrocytes to modify their configuration, forming a glial network around plaques, reducing neuropathology.¹⁰⁹

Noteworthy, other astrocyte's alterations have been observed in AD pathology, for example, the detachment of astrocyte end-feet from the BBB, decreased metabolic activity in the end-feet, loss of GLUT1 receptor among others.^{107; 110} These findings highlight the role of astrocytes in impaired cerebral metabolism and their significance on the onset of AD.

3.4. Basement Membrane

Under physiological conditions, the Basement Membrane (BM) is enveloped by two types of indistinguishable membranes: the inner vascular basement membrane and the outer parenchymal basement membrane. BECs and pericytes collaborate in the synthesis and deposition of extracellular proteins, leading to the formation of the inner vascular basement membrane, while components of the outer parenchymal basement membrane are produced by astrocytes.¹¹¹ This non-cellular component of the BBB is primarily composed of type IV collagens, laminin, fibronectin, nidogen, heparin sulfate proteoglycans such as perlecan, and other glycoproteins.¹¹² Together, these elements provide structural support and contribute to the integrity and proper function of the BBB.

In a healthy brain, the BM typically exhibits a thickness ranging from 20 to 200 nm.¹¹³ With the normal aging process, this BM thickening tends to increase. However, during disease conditions, it is exacerbated due to significant changes in BM composition.¹¹⁴ Some studies using immune electron microscopy indicated that only the parenchymal BM is affected, while the endothelial BM remains unaffected. This suggests that astrocytes might be responsible for the BM thickening.¹¹³ Furthermore, *post-mortem* examination of AD brains has revealed alterations in the extracellular matrix, revealing an increased expression of collagen IV, perlecan, and fibronectin.^{115; 116} Consequently, these changes contribute to membrane thickening, which in turn reduces vessel compliance and impairs neurovascular coupling. This phenomenon facilitates A β deposition, compromises BBB function, and contributes to neurodegeneration.^{112; 117}

Intramural perivascular drainage involves the movement of interstitial fluid of the brain parenchyma along the walls of capillaries and arteries, playing a pivotal role in the clearance of A β .^{114; 118} When the BM, which surrounds blood vessels, undergoes pathological changes such as thickness, it can lead to reduced vascular compliance, impairing the propagation of

cardiovascular pulses. These cardiovascular pulses drive the glymphatic brain clearance, and their damage can hinder the clearance of A β and other metabolic waste products from the brain.¹¹⁹

Among all the components of the BBB, the BM is probably the most understudied, leaving many questions unanswered.

4. Blood-Brain Barrier Dysfunction and Drug Delivery Strategies

The BBB maintains the specific microenvironment in the brain. Under normal physiological conditions the BBB acts as a semi-impermeable membrane, with efficient active efflux systems preventing the entry of foreign molecules, including therapeutic drugs, into the brain. In fact, BBB proves to be the major challenge in the development of new therapies for CNS disorders.²⁸ Due to the active efflux transporters in BEC and the TJ between them, BBB prevents all macromolecules, and almost all small molecules from entering the brain.

This chapter explores the interplay between the disrupted BBB and the delivery of therapeutic molecules across this barrier. It highlights the consequences of BBB dysfunction on drug delivery, the subsequent ways to overcome those limitations and use them as emerging opportunities for drug administration strategies, with the aim of developing effective therapeutic drugs.

4.1. Implications of BBB Dysfunction on Drug Delivery

Although it is often speculated that a compromised BBB presents an opportunity to directly deliver therapeutic molecules into the brain without the need of additional manipulation, it is important to note that the functional and structural alterations mentioned in Section 3 can, in fact, complicate the process.

BBB presents decreased numbers of transporters such as LRPI, GLUT-1 and P-gp, as well as a reduction in TJ, all together responsible for an increased permeability. However, research data observed that the levels of ¹⁴C-glucose remains unaltered in AD mice brains when compared with controls.¹²⁰ The same was observed with P-gp I, finding no differences in mice brain up-taking of its substrates, ³H-digoxin, ³H-loperamide, and ³H-verapamil, despite the reduced P-gp expression.¹²¹ Moreover, studies in Multiple sclerosis and AD related-animal models have shown that TJ loss does not significantly increase the influx of small molecules drugs into the brain^{122; 123}, as reported with sodium fluorescein.¹²⁴ It is important to note that paracellular permeability may differ depending on the specific disease model and the specific

brain region affected. The studied AD-related animal model can exhibit different degrees of BBB dysfunction, and TJ and other specific transporters can vary across brain regions. Therefore, it is important to consider these factors when studying the impact of a disease on BBB paracellular permeability.

Additionally, AD mice models involving the use of ^3H -inulin and ^{14}C -sucrose as vascular space markers demonstrated significantly lower levels compared to control mice. Therefore, the findings suggest a decreased vascular volume in this AD mice model. This can be explained by the thickening of the BM due to the deposition of collagen and other components, impeding molecules from crossing BBB.¹²⁰

Lastly, it has been suggested that bloodstream-derived substances start to accumulate in the perivascular spaces, impeding them from reaching their intended targets.³³

4.2. Opportunities for Drug Delivery Strategies in context of BBB Dysfunction

As previously addressed in this literature review, the expression of RAGE is upregulated in brains affected by AD. This receptor can serve as an opportunity to mediate drug delivery of potential drugs. A possible strategy for delivery of therapeutic molecules across BBB can pass by nanoscale micelles composed by three fundamental elements: a polymer, a RAGE targeting peptide derived from the A β protein, and the therapeutic molecule.¹²⁵ *In vitro* experiments have demonstrated effective delivery through the mimicking of the transportation of A β via RAGE. This strategy provides new insights into the use of BBB dysfunction, namely the increase in RAGE levels, as an advantage for drug delivery.

One of the consequences of BBB breakdown is its increased permeability, allowing peripheral cells to cross the brain, as mentioned in above sections.¹²⁶ This can present an opportunity to efficiently deliver future drug molecules to the brain. For example, it is possible to employ blood cells like carriers or ligands, as shown with leukocytes. The biocompatibility prolonged circulation and specific targeting to the brain make this method particularly compelling.¹²⁷ Indeed, neutrophils, monocytes, and macrophages, have been employed as "trojan horses" for targeted drug delivery to the brain.¹²⁸ Similarly, future strategies using other biological systems such as platelet membranes, and exosome membranes among others can be addressed.

In AD, MFSD2A is reduced which can increase the transcytosis of drug molecules across the compromised BBB, allowing the design of therapeutic systems with high drug-loading

capacities. In certain cases, ligand-modified nanocarriers can have a strong binding affinity to the receptors, making them susceptible to entrapment within endo/lysosomes. This leads to a reduction in their concentration at the intended target. However, brain-targeting ligands can respond to acidity and dissociate from endosomes/lysosomes, which greatly improves their escape from these compartments and enhances exocytosis to the brain parenchyma.^{129; 130} Combining the increased transcytosis facilitated by MFSD2A with the acid-responsive dissociation strategy for ligands holds great potential for achieving significantly improved efficiency in targeting the brain.

Lastly, it is important to mention nanotechnology as an emerging solution to overcome drug delivery problems. By creating liposomal and polymeric nanoparticles, it was possible to overcome the fact that TJ only allows small molecules <20 nm to cross the BBB by passive diffusion. The efficiency of these strategies is influenced by both the extent of transport-related molecular changes and the physicochemical properties of the nanocarriers.¹³¹

5. Blood-Brain Barrier as a Potential Therapeutic Target for Alzheimer's Disease

At this moment, there is no disease-modifying therapy for AD that has been approved by the European Medicines Agency (EMA). This emphasizes the need for further research on therapeutic molecules capable of preventing, delaying, or reverting the signals and symptoms of AD.^{89; 132}

Based on the key points highlighted so far in this review, it is crucial to expand our understanding of the BBB by recognizing its potential as a target for the treatment of CNS diseases. Even though the NVU has an inherent ability to repair BBB damage, in some progressive CNS diseases this capacity becomes shortened. By targeting the BBB to restore its components and functions, it is possible to regulate its homeostasis and slow down the progression or even revert the development of the disease.¹³³ This chapter will explore some innovative approaches targeting the BBB that have the potential to restore its structures and functions.

5.1. Restoring BBB transporter's function

The decreased expression of LRPI and P-gpI has been found to exacerbate neurodegeneration and cognitive decline in AD due to the lower brain elimination of

neurotoxic A β peptides.^{134; 135} This suggests that targeting these transporters could be a potential therapeutic approach to address BBB dysfunction regarding AD.

During the progression of AD, the build-up of A β leads to the activation of the P-gpI ubiquitin-proteasome pathway, which results in its degradation. Thus, it is hypothesized that by inhibiting the P-gpI ubiquitination process there may be a potential reduction in A β levels within the brain. Recent studies in transgenic APP-overexpressing mice demonstrated that PYR41, a specific and irreversible inhibitor of the ubiquitin activation enzyme E1, can restore the P-gpI efflux transporter and replace the normal clearance of A β from the brain.¹³⁶ However, trying to impact only brain tissues without affecting others remains a significant challenge. Furthermore, P-gpI is induced by the pregnane X receptor (PXR) in the presence of xenobiotics. The activation of PXR has been related with enhanced P-gpI expression, promoting the efflux of A β in AD mice models. As follows, molecules that have the potential to activate PXR can also be another interesting therapeutic strategy to induce P-gpI and restore its normal function.¹³⁷

Recent studies have shown that VEGF-B signaling within BEC leads to a decrease in the expression of LRPI and disrupts its recycling back to the cell membrane. Consequently, it affects the intake of external cholesterol and modifies the composition of the cholesterol present in membranes. Consistent with previous findings in different cell types, the modifications in cholesterol levels within the cell membrane also leads to a decrease in GLUT1 in BEC.¹³⁸ Although VEGF-B plays a neuroprotective role, elevated levels of this molecule can induce a breakdown of the BBB.¹³⁹ Inhibition of VEGF-B has shown promising results in restoring cholesterol levels in cell membranes and enhancing glucose uptake.¹³⁸ Additionally, since downregulation of GLUT1 is linked with a consequent reduced expression of LRPI, restoring GLUT1 levels may subsequently increase LRPI expression and facilitate the transcytosis process involved in A β clearance.⁴⁴ Interestingly, other treatments such as rifampicin and caffeine can also increase the expression of LRPI and P-gpI, resulting in enhanced clearance of A β in the brain.¹⁴⁰

In addition, experimental studies have highlighted the significance of RAGE as an essential target for the treatment of AD. These studies open new opportunities by using a RAGE blocker to target RAGE-increased expression. In fact, this promising approach is currently in Phase III of clinical trials, evaluating its effectiveness.¹⁴¹

5.2. Restoring Tight and Adherent Junctions

TJ and AJ play a crucial role in regulating vascular integrity. During pathological conditions it is observed a lower expression of these junction molecules, affecting BBB integrity. However, this can present emerging opportunities to develop new therapeutics, with the aim of restoring BBB integrity. The restoration of VE-cadherin expression has already been addressed by targeting miR-27a.¹⁴² This microRNA interacts with VE-cadherin mRNA and can downregulate its translation, contributing to disease progression. By blocking the interaction between miR-27a and VE-cadherin using a specific target site blocker called CD5-2, an oligonucleotide-based inhibitor, the expression of VE-cadherin can be increased, potentially restoring the integrity of the BBB.¹⁴³ While this specific approach may not have been studied in the context of AD, given the similarities of BBB dysfunction, this strategy holds the potential to become an important target in the future.

Due to the interplay between AJ, specifically VE-cadherin, and modulation of TJ, the restoration of AJ can already have a significant impact on TJ. Nevertheless, TJ can also be a potential target. An antisense oligonucleotide for miR-501-3 have demonstrated promising insights in mouse models in order to increase ZO-1 levels.¹⁴⁴ Claudins, particularly Claudin-1 and Claudin-5, have also emerged as potential targets for recovering BBB integrity. Experimental studies using MS-275 (Entinostat), a benzamide histone deacetylase inhibitor, demonstrated an improvement of claudin-5 expression.⁴² The activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) by AJ has also been associated with TJ recovery, although the underlying mechanism remains unclear.¹⁴⁵

Sphingosine-1-phosphate (SIP), a sphingolipid produced by endothelial cells, has also demonstrated the ability to preserve BBB integrity by stabilizing the distribution of junction molecules. SIP linked with Sphingosine-1-phosphate Receptor I (SIPRI), triggers intracellular signaling pathways that regulate BBB integrity. The administration of SIPRI agonists or modulators like Fingolimod, has demonstrated positive results in other neurological diseases such as Multiple Sclerosis.^{146; 147} Its utilization in AD can also offer promising approaches for disease-modified therapeutics. Indeed, a contrasting strategy has been employed to address the challenge of low BBB permeability. In this case, the approach involves inhibiting the SIPRI with the aim of transiently opening the BBB.¹⁴⁸

5.3. Restoring Pericytes

The signaling of PDGF-B and its receptor PDGFR β in pericytes play a crucial role in the development, maintenance, and proper functioning of a healthy BBB. The reduced association between PDGF-B and PDGFR β can be overcome by developing PDGFR β agonists that will promote pericyte proliferation and protection against apoptosis.¹⁴⁹

On the other hand, targeting pericyte-mediated capillary constriction through Ca²⁺ channel blockers has emerged as a potential therapeutic approach. Early application of blockers targeting pericyte voltage-gated Ca²⁺ channels has been shown to preserve blood flow. Studies have demonstrated that voltage-gated Ca²⁺ channel blockers can moderate capillary constriction and pericyte death, improving outcomes in experimental models.^{150; 151} For instance, administering nimodipine, a dihydropyridine calcium channel antagonist, after middle cerebral artery occlusion in rats has resulted in improved blood flow and better functional recovery.¹⁵² Additionally, nano-carriers linked to adenosine, which can reduce Ca²⁺ channel activity, have demonstrated promise in maintaining capillary dilation.¹⁵³

Studies involving the injection of pericytes derived from cells into the brains of mice with AD have shown potential in AD treatment.¹⁵⁴ Notably, certain pericytes might not react to A β -triggered generation of ROS or the induction of ET-1, which can be addressed by analyzing the gene expression profiles of distinct pericyte populations. These findings could potentially open up the possibility of using A β -nonresponsive pericytes in different microvascular compartments, providing a novel therapeutic strategy.⁸⁸

5.4. Restoring Astrocytes

As a key element in BBB, therapeutic approaches for astrocytes remodeling should also be considered for a potential AD treatment.⁹⁷

Estrogenic compounds have a neuroprotective role by reducing astrogliosis, neuroinflammation, and brain edema, when linked with estrogen receptors expressed in astrocytes.^{155; 156} Estrogens linked with estrogen receptor are capable of control astrocytes functions like an increased release of angiopoietin-1 and inhibited release of MMPs, VCAM-1 and ICAM-1, restoring BBB integrity.⁹⁶

The role of NMDA receptors has emerged prominently in AD effective interventions. While NMDA receptor antagonists like memantine hold promise in mitigating glutamate-induced damage to neurons and astrocytes, a nuanced perspective reveals that selective

activation of NMDA receptor subunits named GluN2 within astrocytes could potentially offer synaptic protection.¹⁵⁷

There are controversial opinions on whether the improvement of AQP4 expression has a positive influence on AD. These opinions are based on the fact that AQP4 increase can be related to other sites than astrocyte end-feet, which appears to have no effect on A β clearance. However, recent data have demonstrated that L-3-n-butylphthalide can enhance perivascular AQP4 localization which can be a potential therapeutic strategy to address AD.¹⁵⁸ Furthermore, microRNAs, small non-coding RNAs, are involved in different processes both in BBB disruption and protection, and their expression in astrocytes can regulate various genes and astrocyte functions.⁹⁶ For example, anti-miR-130a can restore the expression of AQP4 offering protection against AD.¹⁵⁹

These potential targets can have an important role in preventing or delaying the onset of AD. Astrocytes are involved in multiple processes and so, the major challenge passes by selectively targeting the dysregulated pathway without interfering with normal physiological mechanisms.⁹⁷

5.5. Reverting Neuroinflammation

Neuroinflammation is an important event related to the development of AD.¹⁶⁰ As mentioned before, neuroinflammation can be used as a drug delivery strategy to penetrate BBB due to an associated decrease in BBB integrity, however, it can also be viewed as a target to restore BBB and its normal permeability.⁴²

Glucocorticosteroids have been used to target neuroinflammation.^{133; 161} According to mice models, glucocorticoids as allopregnanolone can downregulate the expression of MMPs, especially MMP-2 and MMP-9 implicated in the TJ and BM degradation.¹⁶² The inhibition of MMPs has been associated with the restoration of Claudin-5 and Occludin-1.⁶⁹ There are already various animal models studies and some human models supporting the beneficial role of allopregnanolone.¹⁶³ In fact, allopregnanolone administrated in transgenic mouse models of AD promoted A β clearance and neurogenesis.¹⁶⁴

Adhesion molecules such as VCAM-1 and ICAM-1 have shown potential as targets for reversing neuroinflammation. In AD, VCAM-1 is upregulated, allowing immune cells like leukocytes to enter the brain.¹⁶⁵ Treatments with anti-VCAM-1 antibody or knock-out of VCAM-1 have shown promising results in animal models.¹⁶⁵ This interaction between leukocytes and endothelial cells involves the binding of integrins to VCAM-1. In addition to

targeting VCAM-1, another approach to inhibit neuroinflammation could be targeting integrins expressed by leukocytes.¹⁶⁶ Furthermore, ICAM-1 has also been investigated as a therapeutic target, although further research is needed.

Other potential treatments for AD may involve targeting the proinflammatory CypA-MM9 pathway using cyclosporine, to reverse BBB damage and restore its integrity. Studies conducted on APOE mice demonstrated beneficial results from the binding of cyclosporine with CypA, which inhibits the proinflammatory pathway.⁷⁶

During inflammation processes, several inflammatory cytokines are upregulated. The transforming growth factor- β (TGF- β) has an important role in the phosphorylation of VE-cadherin and Claudin-5, increasing paracellular permeability.¹³³ Therapeutic approaches that block the signaling of TGF- β and the other inflammatory cytokines responsible for BBB dysfunction like interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), and IL-6 are proved to restore BBB function, in animal models.¹⁶⁷ For example, etanercept is a TNF α inhibitor that is demonstrated to restore permeability in mice models.¹⁶⁸

6. Conclusion and Future Perspectives

The BBB is a highly complex system that maintains the microenvironment of the CNS and plays a crucial role in supporting brain homeostasis. The dysfunction of even a single component of the BBB can lead to its breakdown and subsequent neurodegeneration.

This review has highlighted various mechanisms through which BBB dysfunction can contribute to severe neuropathological consequences, including altered expression of key proteins such as LRPI, GLUT-1, Pgp-1, and RAGE, resulting in cognitive impairment. Furthermore, the loss of TJ and AJ molecules, the pericytes and astrocytes degeneration, and the BM thickening and related composition changes have been associated with BBB dysfunction and the onset and development of AD. Those alterations have been observed in both animal models and human studies, as discussed in this review. However, key questions regarding whether BBB dysfunction is a causal factor or a consequence of disease progression and the exact chronological events leading to BBB dysfunction need to be addressed.

It is important to note that BBB dysfunction does not always facilitate drug delivery into the brain, as other factors come into play. Furthermore, it is of particular importance to consider the modifications of the BBB during disease states. This consideration is essential for developing reliable *in vitro* BBB models that can bridge the gap between experimental findings and *in vivo* results, ultimately leading to the development of effective drug delivery strategies.

Moreover, it is also crucial to address the BBB as a dynamic barrier with significant interplay among the components of the NVU.

These multiple BBB changes during pathological conditions could also be seen as emerging opportunities for study AD innovative therapeutic targets designed to revert neurodegeneration and to promote a normal cognitive function. In fact, there is potential therapeutic role of rescuing transporters like LRPI, GLUT-1, P-gpI and RAGE, as well as TJ, AJ, pericytes and astrocytes to restore BBB function, as addressed in this review. Additionally, targeting neuroinflammation can also offer promising outcomes in BBB repair. While various BBB targets have been identified, further efforts are needed to overcome clinical trials and translate promising findings into effective treatments for AD.

7. Bibliography

1. 2022 Alzheimer's disease facts and figures - **Alzheimer's and Dementia**. ISSN 15525279. 18:4 (2022) 700–789. doi: 10.1002/ALZ.12638.
2. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) - **Dementia**, atual. 15 mar. 2023. [Consult. 23 mar. 2023]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
3. LANE, C. A.; HARDY, J.; SCHOTT, J. M. - Alzheimer's disease. **European Journal of Neurology**. ISSN 14681331. 25:1 (2018) 59–70. doi: 10.1111/ENE.13439.
4. SHEPPARD, Olivia; COLEMAN, Michael - Alzheimer's Disease: Etiology, Neuropathology and Pathogenesis. **Alzheimer's Disease: Drug Discovery**. 2020) 1–22. doi: 10.36255/EXONPUBLICATIONS.ALZHEIMERSDISEASE.2020.CHI.
5. LIN, Zixuan *et al.* - Blood–Brain Barrier Breakdown in Relationship to Alzheimer and Vascular Disease. **Annals of neurology**. ISSN 15318249. 90:2 (2021) 227. doi: 10.1002/ANA.26134.
6. NATION, Daniel A. *et al.* - Blood–brain barrier breakdown is an early biomarker of human cognitive dysfunction. **Nature Medicine**. ISSN 1546170X. 25:2 (2019) 270–276. doi: 10.1038/S41591-018-0297-Y.
7. ERICKSON, Michelle A.; BANKS, William A. - Blood-brain barrier dysfunction as a cause and consequence of Alzheimer's disease. **Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**. ISSN 1559-7016. 33:10 (2013) 1500–1513. doi: 10.1038/JCBFM.2013.135.
8. PROFACI, Caterina P. *et al.* - The blood-brain barrier in health and disease: Important unanswered questions. **The Journal of experimental medicine**. ISSN 1540-9538. 217:4 (2020). doi: 10.1084/JEM.20190062.
9. MASTERS, Colin L. *et al.* - Alzheimer's disease. **The Molecular and Cellular Basis of Neurodegenerative Diseases: Underlying Mechanisms**. ISSN 1432-2102. 2018) 57–79. doi: 10.1016/B978-0-12-811304-2.00003-1.
10. KIM, Jaeho *et al.* - The Impact of APOE ϵ 4 in Alzheimer's Disease Differs According to Age. **Journal of Alzheimer's Disease**. ISSN 1387-2877. 61:4 (2018) 1377–1385. doi: 10.3233/JAD-170556.

11. LIU, Chia Chan *et al.* - Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms, and therapy. **Nature reviews. Neurology**. ISSN 17594758. 9:2 (2013) 106. doi: 10.1038/NRNEUROL.2012.263.
12. GRAFF-RADFORD, Jonathan *et al.* - New insights into atypical Alzheimer's disease in the era of biomarkers. **The Lancet Neurology**. ISSN 14744465. 20:3 (2021) 222–234. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30440-3.
13. LONG, Justin M.; HOLTZMAN, David M. - Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies. **Cell**. ISSN 10974172. 179:2 (2019) 312. doi: 10.1016/J.CELL.2019.09.001.
14. KIM, Jaeho *et al.* - Differential effects of risk factors on the cognitive trajectory of early- and late-onset Alzheimer's disease. **Alzheimer's Research and Therapy**. ISSN 17589193. 13:1 (2021) 1–10. doi: 10.1186/S13195-021-00857-W/FIGURES/1.
15. RYAN, Natalie S. *et al.* - Clinical phenotype and genetic associations in autosomal dominant familial Alzheimer's disease: a case series. **The Lancet Neurology**. ISSN 1474-4422. 15:13 (2016) 1326–1335. doi: 10.1016/S1474-4422(16)30193-4.
16. SELKOE, Dennis J.; HARDY, John - The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. doi: 10.15252/emmm.201606210.
17. KNOPMAN, David S. *et al.* - Alzheimer disease. **Nature reviews. Disease primers**. ISSN 2056-676X. 7:1 (2021). doi: 10.1038/S41572-021-00269-Y.
18. SERRANO-POZO, Alberto *et al.* - Neuropathological Alterations in Alzheimer Disease. doi: 10.1101/cshperspect.a006189.
19. BENNETT, Rachel E. *et al.* - Enhanced Tau Aggregation in the Presence of Amyloid β . **The American Journal of Pathology**. ISSN 0002-9440. 187:7 (2017) 1601–1612. doi: 10.1016/J.AJP.2017.03.011.
20. MONTAGNE, Axel; ZHAO, Zhen; ZLOKOVIC, Berislav V. - Alzheimer's disease: A matter of blood-brain barrier dysfunction? **The Journal of experimental medicine**. ISSN 1540-9538. 214:11 (2017) 3151–3169. doi: 10.1084/JEM.20171406.
21. SUN, Yang *et al.* - Apolipoprotein E4 inhibits γ -secretase activity via binding to the γ -secretase complex. **Journal of neurochemistry**. ISSN 1471-4159. 164:6 (2023) 858–874. doi: 10.1111/JNC.15750.

22. SAFIEH, Mirna; KORCZYN, Amos D.; MICHAELSON, Daniel M. - ApoE4: an emerging therapeutic target for Alzheimer's disease. **BMC Medicine** 2019 17:1. ISSN 1741-7015. 17:1 (2019) 1–17. doi: 10.1186/S12916-019-1299-4.
23. RAULIN, Ana Caroline et al. - ApoE in Alzheimer's disease: pathophysiology and therapeutic strategies. **Molecular Neurodegeneration** 2022 17:1. ISSN 1750-1326. 17:1 (2022) 1–26. doi: 10.1186/S13024-022-00574-4.
24. LIAO, Fan; YOON, Hyejin; KIM, Jungsu - Apolipoprotein E metabolism and functions in brain and its role in Alzheimer's disease. **Current Opinion in Lipidology**. ISSN 14736535. 28:1 (2017) 60. doi: 10.1097/MOL.0000000000000383.
25. BILGEL, Murat; JEDYNAK, Bruno M. - Predicting time to dementia using a quantitative template of disease progression. 2019). doi: 10.1016/j.dadm.2019.01.005.
26. MISHRA, Shruti et al. - Longitudinal brain imaging in preclinical Alzheimer disease: impact of APOE e4 genotype. [s.d.]). doi: 10.1093/brain/awy103.
27. LEE, Sven J. VAN DER et al. - The effect of APOE and other common genetic variants on the onset of Alzheimer's disease and dementia: a community-based cohort study. **The Lancet Neurology**. ISSN 14744465. 17:5 (2018) 434–444. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30053-X.
28. PANDIT, Rucha; CHEN, Liyu; GÖTZ, Jürgen - The blood-brain barrier: Physiology and strategies for drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**. ISSN 18728294. 165–166:2020) 1–14. doi: 10.1016/j.ADDR.2019.11.009.
29. KADRY, Hossam; NOORANI, Behnam; CUCULLO, Luca - A blood–brain barrier overview on structure, function, impairment, and biomarkers of integrity. **Fluids and Barriers of the CNS** 2020 17:1. ISSN 2045-8118. 17:1 (2020) 1–24. doi: 10.1186/S12987-020-00230-3.
30. SWEENEY, Melanie D. et al. - Blood-Brain Barrier: From Physiology to Disease and Back. **Physiological reviews**. ISSN 1522-1210. 99:1 (2019) 21–78. doi: 10.1152/PHYSREV.00050.2017.
31. DANEMAN, Richard; PRAT, Alexandre - The Blood–Brain Barrier. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**. ISSN 19430264. 7:1 (2015). doi: 10.1101/CSHPERSPECT.A020412.
32. KNOX, Emily G. et al. - The blood-brain barrier in aging and neurodegeneration. doi: 10.1038/s41380-022-01511-z.
33. SWEENEY, Melanie D.; SAGARE, Abhay P.; ZLOKOVIC, Berislav V. - Blood–brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. **Nature Reviews**

- Neurology** 2018 14:3. ISSN 1759-4766. 14:3 (2018) 133–150. doi: 10.1038/nrneurol.2017.188.
34. PARDRIDGE, William M. - Drug transport across the blood–brain barrier. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**. ISSN 0271678X. 32:11 (2012) 1959. doi: 10.1038/JCBFM.2012.126.
35. KISLER, Kassandra *et al.* - Cerebral blood flow regulation and neurovascular dysfunction in Alzheimer disease. **Nature Publishing Group**. 18:2017). doi: 10.1038/nrn.2017.48.
36. ZLOKOVIC, Berislav V. - Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer’s disease and other disorders. **Nature Reviews Neuroscience** 2011 12:12. ISSN 1471-0048. 12:12 (2011) 723–738. doi: 10.1038/nrn3114.
37. MONTAGNE, Axel *et al.* - APOE4 leads to blood-brain barrier dysfunction predicting cognitive decline. **Nature**. ISSN 14764687. 581:7806 (2020) 71. doi: 10.1038/S41586-020-2247-3.
38. NATION, Daniel A. *et al.* - Blood-brain barrier breakdown is an early biomarker of human cognitive dysfunction. **Nature medicine**. ISSN 1546170X. 25:2 (2019) 270. doi: 10.1038/S41591-018-0297-Y.
39. SWEENEY, Melanie D.; SAGARE, Abhay P.; ZLOKOVIC, Berislav V. - Blood–brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. **Nature Reviews Neurology** 2018 14:3. ISSN 1759-4766. 14:3 (2018) 133–150. doi: 10.1038/nrneurol.2017.188.
40. TAO, Qing Qing *et al.* - Discerning the Role of Blood Brain Barrier Dysfunction in Alzheimer’s Disease. **Aging and disease**. ISSN 2152-5250. 13:5 (2022) 1391–1404. doi: 10.14336/AD.2022.0130-1.
41. MOKGOKONG, Ruth *et al.* - Ion transporters in brain endothelial cells that contribute to formation of brain interstitial fluid. **Pflugers Archiv: European journal of physiology**. ISSN 1432-2013. 466:5 (2014) 887–901. doi: 10.1007/S00424-013-1342-9.
42. LI, Jia *et al.* - Development of Novel Therapeutics Targeting the Blood-Brain Barrier: From Barrier to Carrier. **Advanced science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany)**. ISSN 2198-3844. 8:16 (2021). doi: 10.1002/ADVS.202101090.
43. MONTAGNE, Axel *et al.* - Brain imaging of neurovascular dysfunction in Alzheimer’s disease. **Acta neuropathologica**. ISSN 1432-0533. 131:5 (2016) 687–707. doi: 10.1007/S00401-016-1570-0.

44. WINKLER, Ethan A. *et al.* - GLUT1 reductions exacerbate Alzheimer's disease vasculo-neuronal dysfunction and degeneration. **Nature neuroscience**. ISSN 1546-1726. 18:4 (2015) 521–530. doi: 10.1038/NN.3966.
45. KYRTATA, Natalia *et al.* - A Systematic Review of Glucose Transport Alterations in Alzheimer's Disease. **Frontiers in Neuroscience**. ISSN 1662453X. 15:2021). doi: 10.3389/FNINS.2021.626636.
46. ACKER, Zoë P. VAN; BRETOU, Marine; ANNAERT, Wim - Endo-lysosomal dysregulations and late-onset Alzheimer's disease: impact of genetic risk factors. **Molecular Neurodegeneration** 2019 14:1. ISSN 1750-1326. 14:1 (2019) 1–20. doi: 10.1186/S13024-019-0323-7.
47. STORCK, Steffen E. *et al.* - The concerted amyloid-beta clearance of LRPI and ABCB1/P-gp across the blood-brain barrier is linked by PICALM. **Brain, behavior, and immunity**. ISSN 1090-2139. 73:2018) 21–33. doi: 10.1016/J.BBI.2018.07.017.
48. DEANE, Rashid *et al.* - LRP/Amyloid β -Peptide Interaction Mediates Differential Brain Efflux of A β Isoforms. **Neuron**. ISSN 0896-6273. 43:3 (2004) 333–344. doi: 10.1016/J.NEURON.2004.07.017.
49. CHAI, Amanda B. *et al.* - P-glycoprotein: a role in the export of amyloid- β in Alzheimer's disease? **The FEBS journal**. ISSN 1742-4658. 287:4 (2020) 612–625. doi: 10.1111/FEBS.15148.
50. WANG, Wei; M. BODLES-BRAKHOP, Angela; W. BARGER, Steven - A Role for P-Glycoprotein in Clearance of Alzheimer Amyloid β -Peptide from the Brain. **Current Alzheimer research**. ISSN 1875-5828. 13:6 (2016) 615–620. doi: 10.2174/1567205013666160314151012.
51. ASSEMA, Daniëlle M. E. VAN *et al.* - Blood-brain barrier P-glycoprotein function in Alzheimer's disease. **Brain: a journal of neurology**. ISSN 1460-2156. 135:Pt 1 (2012) 181–189. doi: 10.1093/BRAIN/AWR298.
52. DEO, Anand K. *et al.* - Activity of P-glycoprotein, a β -amyloid transporter at the blood-brain barrier, is compromised in patients with mild Alzheimer disease. **Journal of Nuclear Medicine**. ISSN 0161-5505. 55:7 (2014) 1106–1111. doi: 10.2967/JNUMED.113.130161.
53. CAI, Zhiyou *et al.* - Role of Blood-Brain Barrier in Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's disease: JAD**. ISSN 1875-8908. 63:4 (2018) 1223–1234. doi: 10.3233/JAD-180098.

54. MILLER, Miles C. *et al.* - Hippocampal RAGE immunoreactivity in early and advanced Alzheimer's disease. **Brain research**. ISSN 0006-8993. 1230:2008) 273–280. doi: 10.1016/J.BRAINRES.2008.06.124.
55. YAMAZAKI, Yu; KANEKIYO, Takahisa - Blood-Brain Barrier Dysfunction and the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. **International journal of molecular sciences**. ISSN 1422-0067. 18:9 (2017). doi: 10.3390/IJMS18091965.
56. KONG, Yanyan *et al.* - Progress of RAGE Molecular Imaging in Alzheimer's Disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**. ISSN 16634365. 12:2020) 543289. doi: 10.3389/FNAGI.2020.00227/BIBTEX.
57. SOTO, Ileana *et al.* - Meox2 haploinsufficiency increases neuronal cell loss in a mouse model of Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**. ISSN 0197-4580. 42:2016) 50–60. doi: 10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2016.02.025.
58. WU, Zhenhua *et al.* - Role of the MEOX2 homeobox gene in neurovascular dysfunction in Alzheimer disease. **Nature Medicine** 2005 11:9. ISSN 1546-170X. 11:9 (2005) 959–965. doi: 10.1038/nm1287.
59. GRAMMAS, Paula *et al.* - Brain microvasculature and hypoxia-related proteins in Alzheimer's disease. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**. ISSN 19362625. 4:6 (2011) 616.
60. ANDREONE, Benjamin J. *et al.* - Blood-brain barrier permeability is regulated by lipid transport-dependent suppression of caveolae-mediated transcytosis. **Neuron**. ISSN 10974199. 94:3 (2017) 581. doi: 10.1016/J.NEURON.2017.03.043.
61. NGUYEN, Long N. *et al.* - Mfsd2a is a transporter for the essential omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid. **Nature** 2014 509:7501. ISSN 1476-4687. 509:7501 (2014) 503–506. doi: 10.1038/nature13241.
62. SÁNCHEZ-CAMPILLO, María *et al.* - Decreased Blood Level of MFSD2a as a Potential Biomarker of Alzheimer's Disease. **International journal of molecular sciences**. ISSN 1422-0067. 21:1 (2019). doi: 10.3390/IJMS21010070.
63. BEN-ZVI, Ayal *et al.* - Mfsd2a is critical for the formation and function of the blood–brain barrier. **Nature** 2014 509:7501. ISSN 1476-4687. 509:7501 (2014) 507–511. doi: 10.1038/nature13324.

64. HUANG, Bei; LI, Xihong - The Role of Mfsd2a in Nervous System Diseases. **Frontiers in Neuroscience**. ISSN 1662453X. 15:2021) 730534. doi: 10.3389/FNINS.2021.730534/BIBTEX.
65. CHEN, Jian *et al.* - Increase of ALCAM and VCAM-1 in the plasma predicts the Alzheimer's disease. **Frontiers in immunology**. ISSN 1664-3224. 13:2023). doi: 10.3389/FIMMU.2022.1097409.
66. OIKARI, Lotta E. *et al.* - Altered Brain Endothelial Cell Phenotype from a Familial Alzheimer Mutation and Its Potential Implications for Amyloid Clearance and Drug Delivery. **Stem cell reports**. ISSN 2213-6711. 14:5 (2020) 924–939. doi: 10.1016/J.STEMCR.2020.03.011.
67. PFEIFFER, Friederike *et al.* - Claudin-1 induced sealing of blood-brain barrier tight junctions ameliorates chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. doi: 10.1007/s00401-011-0883-2.
68. TIETZ, Silvia; ENGELHARDT, Britta - Brain barriers: Crosstalk between complex tight junctions and adherens junctions. **The Journal of cell biology**. ISSN 1540-8140. 209:4 (2015) 493–506. doi: 10.1083/JCB.201412147.
69. GREENE, Chris; HANLEY, Nicole; CAMPBELL, Matthew - Claudin-5: gatekeeper of neurological function. **Fluids and Barriers of the CNS 2019 16:1**. ISSN 2045-8118. 16:1 (2019) 1–15. doi: 10.1186/S12987-019-0123-Z.
70. SHIN, Yoojin *et al.* - Blood–Brain Barrier Dysfunction in a 3D In Vitro Model of Alzheimer's Disease. **Advanced Science**. ISSN 21983844. 6:20 (2019). doi: 10.1002/ADVS.201900962.
71. YAMAZAKI, Yu *et al.* - Selective loss of cortical endothelial tight junction proteins during Alzheimer's disease progression. **Brain: a journal of neurology**. ISSN 1460-2156. 142:4 (2019) 1077–1092. doi: 10.1093/BRAIN/AWZ011.
72. ROSENBERG, Gary A. - Matrix metalloproteinases and their multiple roles in neurodegenerative diseases. **The Lancet Neurology**. ISSN 1474-4422. 8:2 (2009) 205–216. doi: 10.1016/S1474-4422(09)70016-X.
73. TENG, Zhipeng *et al.* - ApoE Influences the Blood-Brain Barrier Through the NF-κB/MMP-9 Pathway After Traumatic Brain Injury. **Scientific reports**. ISSN 2045-2322. 7:1 (2017). doi: 10.1038/S41598-017-06932-3.
74. HALLIDAY, Matthew R. *et al.* - Accelerated pericyte degeneration and blood-brain barrier breakdown in apolipoprotein E4 carriers with Alzheimer's disease. **Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral**

Blood Flow and Metabolism. ISSN 1559-7016. 36:1 (2016) 216–227. doi: 10.1038/JCBFM.2015.44.

75. HALLIDAY, Matthew R. *et al.* - Relationship between cyclophilin a levels and matrix metalloproteinase 9 activity in cerebrospinal fluid of cognitively normal apolipoprotein e4 carriers and blood-brain barrier breakdown. **JAMA neurology.** ISSN 2168-6157. 70:9 (2013) 1198–1200. doi: 10.1001/JAMANEUROL.2013.3841.

76. BELL, Robert D. *et al.* - Apolipoprotein E controls cerebrovascular integrity via cyclophilin A. **Nature.** ISSN 1476-4687. 485:7399 (2012) 512–516. doi: 10.1038/NATURE11087.

77. LUISSINT, Anny Claude *et al.* - Tight junctions at the blood brain barrier: physiological architecture and disease-associated dysregulation. **Fluids and barriers of the CNS.** ISSN 2045-8118. 9:1 (2012). doi: 10.1186/2045-8118-9-23.

78. MARCO, Sonia; SKAPER, Stephen D. - Amyloid β -peptide1–42 alters tight junction protein distribution and expression in brain microvessel endothelial cells. **Neuroscience Letters.** ISSN 0304-3940. 401:3 (2006) 219–224. doi: 10.1016/J.NEULET.2006.03.047.

79. ATTWELL, David *et al.* - What is a pericyte? **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.** ISSN 15597016. 36:2 (2016) 451. doi: 10.1177/0271678X15610340.

80. WINKLER, Ethan A.; BELL, Robert D.; ZLOKOVIC, Berislav V. - Central nervous system pericytes in health and disease. **Nature neuroscience.** ISSN 1546-1726. 14:11 (2011) 1398–1405. doi: 10.1038/NN.2946.

81. SWEENEY, Melanie D.; AYYADURAI, Shiva; ZLOKOVIC, Berislav V. - Pericytes of the neurovascular unit: Key functions and signaling pathways. **Nature neuroscience.** ISSN 15461726. 19:6 (2016) 771. doi: 10.1038/NN.4288.

82. ARMULIK, Annika *et al.* - Pericytes regulate the blood-brain barrier. **Nature.** (2010). doi: 10.1038/nature09522.

83. BROWN, Lachlan S. *et al.* - Pericytes and neurovascular function in the healthy and diseased brain. **Frontiers in Cellular Neuroscience.** ISSN 16625102. 13:2019) 457589. doi: 10.3389/FNCEL.2019.00282/BIBTEX.

84. RUSTENHOVEN, Justin *et al.* - Brain Pericytes As Mediators of Neuroinflammation. **Trends in pharmacological sciences.** ISSN 1873-3735. 38:3 (2017) 291–304. doi: 10.1016/J.TIPS.2016.12.001.

85. SENGILLO, Jesse D. *et al.* - Deficiency in mural vascular cells coincides with blood-brain barrier disruption in Alzheimer's disease. **Brain pathology (Zurich, Switzerland)**. ISSN 1750-3639. 23:3 (2013) 303–310. doi: 10.1111/BPA.12004.
86. BELL, Robert D. *et al.* - Pericytes Control Key Neurovascular Functions and Neuronal Phenotype in the Adult Brain and during Brain Aging. **Neuron**. ISSN 08966273. 68:3 (2010) 409–427. doi: 10.1016/j.neuron.2010.09.043.
87. SAGARE, Abhay P. *et al.* - Shedding of soluble platelet-derived growth factor receptor- β from human brain pericytes. **Neuroscience letters**. ISSN 1872-7972. 607:2015) 97–101. doi: 10.1016/j.NEULET.2015.09.025.
88. ALCENDOR, Donald J. - Interactions between Amyloid-B Proteins and Human Brain Pericytes: Implications for the Pathobiology of Alzheimer's Disease. **Journal of Clinical Medicine**. ISSN 20770383. 9:5 (2020). doi: 10.3390/JCM9051490.
89. SOUSA, João André *et al.* - Reconsidering the role of blood-brain barrier in Alzheimer's disease: From delivery to target. **Frontiers in Aging Neuroscience**. ISSN 16634365. 15:2023) 1102809. doi: 10.3389/FNAGI.2023.1102809/BIBTEX.
90. NORTLEY, Ross *et al.* - Amyloid β oligomers constrict human capillaries in Alzheimer's disease via signaling to pericytes. **Science (New York, N.Y.)**. ISSN 1095-9203. 365:6450 (2019). doi: 10.1126/SCIENCE.AAV9518.
91. HIBBS, Elliott; LOVE, Seth; MINERS, J. Scott - Pericyte Contractile Responses to Endothelin-1 and A β Peptides: Assessment by Electrical Impedance Assay. **Frontiers in cellular neuroscience**. ISSN 1662-5102. 15:2021). doi: 10.3389/FNCEL.2021.723953.
92. WINKLER, Ethan A.; SAGARE, Abhay P.; ZLOKOVIC, Berislav V. - The pericyte: A forgotten cell type with important implications for alzheimer's disease? **Brain Pathology**. ISSN 17503639. 24:4 (2014) 371–386. doi: 10.1111/BPA.12152.
93. HALLIDAY, Matthew R. *et al.* - Accelerated pericyte degeneration and blood–brain barrier breakdown in apolipoprotein E4 carriers with Alzheimer's disease. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**. ISSN 15597016. 36:1 (2016) 216. doi: 10.1038/JCBFM.2015.44.
94. MONTAGNE, Axel *et al.* - APOE4 accelerates advanced-stage vascular and neurodegenerative disorder in old Alzheimer's mice via cyclophilin A independently of amyloid- β . **Nature Aging 2021 1:6**. ISSN 2662-8465. 1:6 (2021) 506–520. doi: 10.1038/s43587-021-00073-z.

95. GONZÁLEZ-REYES, Rodrigo E. *et al.* - Involvement of Astrocytes in Alzheimer's Disease from a Neuroinflammatory and Oxidative Stress Perspective. **Frontiers in molecular neuroscience**. ISSN 1662-5099. 10:2017). doi: 10.3389/FNMOL.2017.00427.
96. MICHINAGA, Shotaro; KOYAMA, Yutaka - Dual Roles of Astrocyte-Derived Factors in Regulation of Blood-Brain Barrier Function after Brain Damage. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 20:3 (2019). doi: 10.3390/IJMS20030571.
97. RODRÍGUEZ-GIRALDO, Mateo *et al.* - Astrocytes as a Therapeutic Target in Alzheimer's Disease—Comprehensive Review and Recent Developments. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 23:21 (2022). doi: 10.3390/IJMS232113630.
98. SIDORYK-WĘGRZYNOWICZ, Marta *et al.* - Role of Astrocytes in Brain Function and Disease. **Toxicologic pathology**. ISSN 15331601. 39:1 (2011) 115. doi: 10.1177/0192623310385254.
99. FERRARI-SOUZA, João Pedro *et al.* - Astrocyte biomarker signatures of amyloid- β and tau pathologies in Alzheimer's disease. **Molecular psychiatry**. ISSN 1476-5578. 27:11 (2022) 4781–4789. doi: 10.1038/S41380-022-01716-2.
100. YUE, Qian; HOI, Maggie Pui Man - Emerging roles of astrocytes in blood-brain barrier disruption upon amyloid-beta insults in Alzheimer's disease. **Neural Regeneration Research**. ISSN 18767958. 18:9 (2023) 1890. doi: 10.4103/1673-5374.367832.
101. ARGAW, Azeb Tadesse *et al.* - Astrocyte-derived VEGF-A drives blood-brain barrier disruption in CNS inflammatory disease. **The Journal of clinical investigation**. ISSN 1558-8238. 122:7 (2012) 2454–2468. doi: 10.1172/JCI60842.
102. JO, Seonmi *et al.* - GABA from reactive astrocytes impairs memory in mouse models of Alzheimer's disease. **Nature Medicine** 2014 20:8. ISSN 1546-170X. 20:8 (2014) 886–896. doi: 10.1038/nm.3639.
103. GARASCHUK, Olga; VERKHRATSKY, Alexei - GABAergic astrocytes in Alzheimer's disease. **Aging (Albany NY)**. ISSN 19454589. 11:6 (2019) 1602. doi: 10.18632/AGING.101870.
104. PIHLAJA, Rea *et al.* - Multiple cellular and molecular mechanisms Are involved in human A β clearance by transplanted adult astrocytes. **Glia**. ISSN 1098-1136. 59:11 (2011) 1643–1657. doi: 10.1002/GLIA.21212.
105. VIEJO, Lucía *et al.* - Systematic review of human post-mortem immunohistochemical studies and bioinformatics analyses unveil the complexity of astrocyte reaction in Alzheimer's

disease. **Neuropathology and applied neurobiology**. ISSN 1365-2990. 48:1 (2022). doi: 10.1111/NAN.12753.

106. MINERS, James Scott *et al.* - Neprilysin and insulin-degrading enzyme levels are increased in Alzheimer disease in relation to disease severity. **Journal of neuropathology and experimental neurology**. ISSN 0022-3069. 68:8 (2009) 902–914. doi: 10.1097/NEN.0B013E3181AFE475.

107. ROSU, Gabriela Camelia *et al.* - Inhibition of Aquaporin 4 Decreases Amyloid A β 40 Drainage Around Cerebral Vessels. **Molecular neurobiology**. ISSN 1559-1182. 57:11 (2020) 4720–4734. doi: 10.1007/S12035-020-02044-8.

108. SMITH, Alex J.; DUAN, Tianjiao; VERKMAN, Alan S. - Aquaporin-4 reduces neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease by remodeling peri-plaque astrocyte structure. **Acta Neuropathologica Communications**. ISSN 20515960. 7:1 (2019) 74. doi: 10.1186/S40478-019-0728-0.

109. SMITH, Alex J.; DUAN, Tianjiao; VERKMAN, Alan S. - Aquaporin-4 reduces neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease by remodeling peri-plaque astrocyte structure. **Acta neuropathologica communications**. ISSN 20515960. 7:1 (2019) 74. doi: 10.1186/S40478-019-0728-0/FIGURES/6.

110. MERLINI, Mario *et al.* - Vascular b-amyloid and early astrocyte alterations impair cerebrovascular function and cerebral metabolism in transgenic arcAb mice. doi: 10.1007/s00401-011-0834-y.

111. ARCHIE, Sabrina Rahman; SHOYAIB, Abdullah AL; CUCULLO, Luca - Blood-Brain Barrier Dysfunction in CNS Disorders and Putative Therapeutic Targets: An Overview. **Pharmaceutics**. ISSN 1999-4923. 13:11 (2021). doi: 10.3390/PHARMACEUTICS13111779.

112. XU, Lingling; NIRWANE, Abhijit; YAO, Yao - Basement membrane and blood–brain barrier. **Stroke and Vascular Neurology**. ISSN 20598696. 4:2 (2019) 78. doi: 10.1136/SVN-2018-000198.

113. THOMSEN, Maj S.; ROUTHE, Lisa J.; MOOS, Torben - The vascular basement membrane in the healthy and pathological brain. **Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**. ISSN 1559-7016. 37:10 (2017) 3300–3317. doi: 10.1177/0271678X17722436.

114. FISHER, Robert A.; MINERS, J. Scott; LOVE, Seth - Pathological changes within the cerebral vasculature in Alzheimer's disease: New perspectives. **Brain pathology (Zurich, Switzerland)**. ISSN 1750-3639. 32:6 (2022). doi: 10.1111/BPA.13061.
115. LEPELLETIER, F. X. *et al.* - Early changes in extracellular matrix in Alzheimer's disease. **Neuropathology and applied neurobiology**. ISSN 1365-2990. 43:2 (2017) 167–182. doi: 10.1111/NAN.12295.
116. SINGH-BAINS, Malvinder K. *et al.* - Altered microglia and neurovasculature in the Alzheimer's disease cerebellum. **Neurobiology of disease**. ISSN 1095-953X. 132:2019). doi: 10.1016/j.NBD.2019.104589.
117. GIREUD-GOSS, Monica *et al.* - Cerebral Amyloid Angiopathy and Blood-Brain Barrier Dysfunction. doi: 10.1177/1073858420954811.
118. MORRIS, Alan W. J. *et al.* - Vascular basement membranes as pathways for the passage of fluid into and out of the brain. **Acta neuropathologica**. ISSN 1432-0533. 131:5 (2016) 725–736. doi: 10.1007/S00401-016-1555-Z.
119. RAJNA, Zalan *et al.* - 3D Multi-Resolution Optical Flow Analysis of Cardiovascular Pulse Propagation in Human Brain. **IEEE transactions on medical imaging**. ISSN 1558-254X. 38:9 (2019) 2028–2036. doi: 10.1109/TMI.2019.2904762.
120. MEHTA, Dharmini C.; SHORT, Jennifer L.; NICOLAZZO, Joseph A. - Altered brain uptake of therapeutics in a triple transgenic mouse model of alzheimer's disease. **Pharmaceutical Research**. ISSN 07248741. 30:11 (2013) 2868–2879. doi: 10.1007/S11095-013-1116-2.
121. MEHTA, Dharmini - Impact of alzheimer's disease on drug transport across the blood-brain barrier (2017). doi: 10.4225/03/58B4BB90D1BCC.
122. BANKS, William A. - Drug Delivery to the Brain in Alzheimer's Disease: Consideration of the Blood-brain Barrier. **Advanced Drug Delivery Reviews**. ISSN 0169409X. 64:7 (2012) 629. doi: 10.1016/j.ADDR.2011.12.005.
123. CHENG, Ziqiang *et al.* - Central nervous system penetration for small molecule therapeutic agents does not increase in multiple sclerosis- and Alzheimer's disease-related animal models despite reported blood-brain barrier disruption. **Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals**. ISSN 1521-009X. 38:8 (2010) 1355–1361. doi: 10.1124/DMD.110.033324.

124. CHENG, Ziqiang *et al.* - Central nervous system penetration for small molecule therapeutic agents does not increase in multiple sclerosis- and Alzheimer's disease-related animal models despite reported blood-brain barrier disruption. **Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals**. ISSN 1521-009X. 38:8 (2010) 1355–1361. doi: 10.1124/DMD.110.033324.
125. LU, Yifei *et al.* - Microenvironment Remodeling Micelles for Alzheimer's Disease Therapy by Early Modulation of Activated Microglia. **Advanced Science**. ISSN 21983844. 6:4 (2019). doi: 10.1002/ADVS.201801586.
126. SARAIVA, Cláudia *et al.* - Nanoparticle-mediated brain drug delivery: Overcoming blood–brain barrier to treat neurodegenerative diseases. **Journal of Controlled Release**. ISSN 0168-3659. 235:2016) 34–47. doi: 10.1016/J.JCONREL.2016.05.044.
127. LI, Yong Jiang *et al.* - From blood to brain: blood cell-based biomimetic drug delivery systems. **Drug Delivery**. ISSN 15210464. 28:1 (2021) 1214. doi: 10.1080/10717544.2021.1937384.
128. AZIZ, Amal A.; AMTUL, Zareen - Developing Trojan horses to induce, diagnose and suppress Alzheimer's pathology. **Pharmacological research**. ISSN 1096-1186. 149:2019). doi: 10.1016/J.PHRS.2019.104471.
129. CAI, Lulu *et al.* - Endo/Lysosome-Escapable Delivery Depot for Improving BBB Transcytosis and Neuron Targeted Therapy of Alzheimer's Disease. **Advanced Functional Materials**. ISSN 1616-3028. 30:27 (2020) 1909999. doi: 10.1002/ADFM.201909999.
130. RUAN, Shaobo *et al.* - Acid-Responsive Transferrin Dissociation and GLUT Mediated Exocytosis for Increased Blood–Brain Barrier Transcytosis and Programmed Glioma Targeting Delivery. **Advanced Functional Materials**. ISSN 1616-3028. 28:30 (2018) 1802227. doi: 10.1002/ADFM.201802227.
131. MASSERINI, Massimo - Nanoparticles for brain drug delivery. **ISRN biochemistry**. ISSN 2090-7729. 2013:2013) 1–18. doi: 10.1155/2013/238428.
132. CUMMINGS, Jeffrey *et al.* - Alzheimer's disease drug development pipeline: 2023. **Alzheimer's & dementia (New York, N. Y.)**. ISSN 2352-8737. 9:2 (2023) e12385. doi: 10.1002/TRC2.12385.
133. OBERMEIER, Birgit; DANEMAN, Richard; RANSOHOFF, Richard M. - Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier. **Nature Medicine** 2013 19:12. ISSN 1546-170X. 19:12 (2013) 1584–1596. doi: 10.1038/nm.3407.

134. STRAZIELLE, Nathalie; GHERSI-EGEA, Jean François - Efflux transporters in blood-brain interfaces of the developing brain. **Frontiers in Neuroscience**. ISSN 1662453X. 9:FEB (2015) 128986. doi: 10.3389/FNINS.2015.00021/BIBTEX.
135. SILVERBERG, Gerald D. *et al.* - Amyloid efflux transporter expression at the blood-brain barrier declines in normal aging. **Journal of neuropathology and experimental neurology**. ISSN 1554-6578. 69:10 (2010) 1034–1043. doi:10.1097/NEN.0B013E3181F46E25.
136. DING, Yujie *et al.* - Protecting P-glycoprotein at the blood-brain barrier from degradation in an Alzheimer's disease mouse model. **Fluids and barriers of the CNS**. ISSN 2045-8118. 18:1 (2021). doi: 10.1186/S12987-021-00245-4.
137. OTT, Melanie; FRICKER, Gert; BAUER, Björn - Pregnane X receptor (PXR) regulates P-glycoprotein at the blood-brain barrier: functional similarities between pig and human PXR. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**. ISSN 1521-0103. 329:1 (2009) 141–149. doi: 10.1124/JPET.108.149690.
138. MOESSINGER, Christine *et al.* - VEGF-B signaling impairs endothelial glucose transcytosis by decreasing membrane cholesterol content. **EMBO Reports**. ISSN 1469-221X. 21:7 (2020). doi: 10.15252/EMBR.201949343.
139. LANGE, Christian *et al.* - Vascular endothelial growth factor: a neurovascular target in neurological diseases. **Nature reviews. Neurology**. ISSN 1759-4766. 12:8 (2016) 439–454. doi: 10.1038/NRNEUROL.2016.88.
140. QOSA, Hisham *et al.* - Enhanced Brain Amyloid- β Clearance by Rifampicin and Caffeine as a Possible Protective Mechanism Against Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's disease: JAD**. ISSN 18758908. 31:1 (2012) 151. doi: 10.3233/JAD-2012-120319.
141. CUMMINGS, Jeffrey *et al.* - Alzheimer's disease drug development pipeline: 2021. **Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions**. ISSN 2352-8737. 7:1 (2021) e12179. doi: 10.1002/TRC2.12179.
142. LI, Jia *et al.* - Targeting miR-27a/VE-cadherin interactions rescues cerebral cavernous malformations in mice. **PLOS Biology**. ISSN 1545-7885. 18:6 (2020) e3000734. doi: 10.1371/JOURNAL.PBIO.3000734.
143. ZHAO, Yang *et al.* - Targeting Vascular Endothelial-Cadherin in Tumor-Associated Blood Vessels Promotes T-cell-Mediated Immunotherapy. **Cancer research**. ISSN 1538-7445. 77:16 (2017) 4434–4447. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-3129.

144. TOYAMA, Kensuke *et al.* - Role of MicroRNAs in acceleration of vascular endothelial senescence. **Biochemistry and Biophysics Reports**. ISSN 2405-5808. 30:2022) 101281. doi: 10.1016/J.BBREP.2022.101281.
145. TSUKITA, Kazuto *et al.* - Reciprocal Association between the Apical Junctional Complex and AMPK: A Promising Therapeutic Target for Epithelial/Endothelial Barrier Function? **International Journal of Molecular Sciences** 2019, Vol. 20, Page 6012. ISSN 1422-0067. 20:23 (2019) 6012. doi: 10.3390/IJMS20236012.
146. ANGELOPOULOU, Efthalia; PIPERI, Christina - Beneficial Effects of Fingolimod in Alzheimer's Disease: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential. **NeuroMolecular Medicine**. ISSN 15591174. 21:3 (2019) 227–238. doi: 10.1007/S12017-019-08558-2/TABLES/1.
147. LESSMANN, Volkmar *et al.* - Repurposing drugs against Alzheimer's disease: can the anti-multiple sclerosis drug fingolimod (FTY720) effectively tackle inflammation processes in AD? **Journal of Neural Transmission**. ISSN 14351463. 1:2023) 1–10. doi: 10.1007/S00702-023-02618-5/METRICS.
148. YANAGIDA, Keisuke *et al.* - Size-selective opening of the blood-brain barrier by targeting endothelial sphingosine 1-phosphate receptor 1. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. ISSN 1091-6490. 114:17 (2017) 4531–4536. doi: 10.1073/PNAS.1618659114.
149. SMYTH, Leon C. D. *et al.* - Characterisation of PDGF-BB:PDGFR β signalling pathways in human brain pericytes: evidence of disruption in Alzheimer's disease. **Communications biology**. ISSN 2399-3642. 5:1 (2022). doi: 10.1038/S42003-022-03180-8.
150. GERANMAYEH, Mohammad Hossein; RAHBARGHAZI, Reza; FARHOUDI, Mehdi - Targeting pericytes for neurovascular regeneration. **Cell Communication and Signaling** 2019 17:1. ISSN 1478-811X. 17:1 (2019) 1–13. doi: 10.1186/S12964-019-0340-8.
151. CHENG, Jinping *et al.* - Targeting pericytes for therapeutic approaches to neurological disorders. **Acta Neuropathologica** 2018 136:4. ISSN 1432-0533. 136:4 (2018) 507–523. doi: 10.1007/S00401-018-1893-0.
152. CARLSON, Andrew P. *et al.* - Nimodipine Reappraised: An Old Drug with a Future. **Current Neuropharmacology**. ISSN 1570159X. 18:1 (2020) 65. doi: 10.2174/1570159X17666190927113021.

153. GAUDIN, Alice *et al.* - Squalenoyl adenosine nanoparticles provide neuroprotection after stroke and spinal cord injury. **Nature nanotechnology**. ISSN 1748-3395. 9:12 (2014) 1054–1062. doi: 10.1038/NNANO.2014.274.
154. TACHIBANA, Masaya *et al.* - Pericyte implantation in the brain enhances cerebral blood flow and reduces amyloid- β pathology in amyloid model mice. **Experimental neurology**. ISSN 1090-2430. 300:2018) 13–21. doi: 10.1016/J.EXPNEUROL.2017.10.023.
155. SPENCE, Rory D. *et al.* - Estrogen Mediates Neuroprotection and Anti-Inflammatory Effects during EAE through ER α Signaling on Astrocytes But Not through ER β Signaling on Astrocytes or Neurons. **Journal of Neuroscience**. ISSN 0270-6474. 33:26 (2013) 10924–10933. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0886-13.2013.
156. CRESPO-CASTRILLO, Andrea; AREVALO, Maria Angeles - Microglial and Astrocytic Function in Physiological and Pathological Conditions: Estrogenic Modulation. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 21:9 (2020). doi: 10.3390/IJMS21093219.
157. LI, Yan *et al.* - Astrocytic GluN2A and GluN2B Oppose the Synaptotoxic Effects of Amyloid- β 1-40 in Hippocampal Cells. **Journal of Alzheimer's disease : JAD**. ISSN 1875-8908. 54:1 (2016) 135–148. doi: 10.3233/JAD-160297.
158. ZHANG, Bo *et al.* - L-3-n-Butylphthalide Effectively Improves the Glymphatic Clearance and Reduce Amyloid- β Deposition in Alzheimer's Transgenic Mice. **Journal of Molecular Neuroscience**. ISSN 15591166. 71:6 (2021) 1266–1274. doi: 10.1007/S12031-020-01752-Z/FIGURES/5.
159. GOMES, André *et al.* - The Emerging Role of microRNAs in Aquaporin Regulation. **Frontiers in Chemistry**. ISSN 22962646. 6:2018) 238. doi: 10.3389/FCHEM.2018.00238.
160. CALSOLARO, Valeria; EDISON, Paul - Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Current evidence and future directions. **Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association**. ISSN 1552-5279. 12:6 (2016) 719–732. doi: 10.1016/J.JALZ.2016.02.010.
161. VERDIER, Jean-Michel *et al.* - Central Role of Glucocorticoid Receptors in Alzheimer's Disease and Depression. **Frontiers in Neuroscience | www.frontiersin.org**. (2018) 739. doi: 10.3389/fnins.2018.00739.
162. ISHRAT, Tauheed *et al.* - Progesterone and allopregnanolone attenuate blood-brain barrier dysfunction following permanent focal ischemia by regulating the expression of matrix

metalloproteinases. **Experimental neurology**. ISSN 00144886. 226:1 (2010) 183. doi: 10.1016/J.EXPNEUROL.2010.08.023.

163. NOORBAKHS, Farshid; BAKER, Glen B.; POWER, Christopher - Allopregnanolone and neuroinflammation: a focus on multiple sclerosis. **Frontiers in Cellular Neuroscience**. ISSN 16625102. 8:JUN (2014). doi: 10.3389/FNCEL.2014.00134.

164. CHEN, Shuhua *et al.* - Allopregnanolone Promotes Regeneration and Reduces β -Amyloid Burden in a Preclinical Model of Alzheimer's Disease. **PLoS ONE**. ISSN 19326203. 6:8 (2011). doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0024293.

165. YOUSEF, Hanadie *et al.* - Aged blood impairs hippocampal neural precursor activity and activates microglia via brain endothelial cell VCAM1. **Nature Medicine**. ISSN 1078-8956. 25:6 (2019) 988–1000. doi: 10.1038/S41591-019-0440-4.

166. PIETRONIGRO, Enrica *et al.* - Blockade of α 4 integrins reduces leukocyte–endothelial interactions in cerebral vessels and improves memory in a mouse model of Alzheimer's disease. **Scientific Reports**. ISSN 20452322. 9:1 (2019). doi: 10.1038/S41598-019-48538-X.

167. SENATOROV, Vladimir V. *et al.* - Blood-brain barrier dysfunction in aging induces hyperactivation of TGF β signaling and chronic yet reversible neural dysfunction. **Science translational medicine**. ISSN 1946-6242. 11:521 (2019). doi: 10.1126/SCITRANS LMED.AAW8283.

168. DECOURT, Boris; LAHIRI, Debomoy K.; SABBAGH, Marwan N. - Targeting Tumor Necrosis Factor Alpha for Alzheimer's Disease. **Current Alzheimer research**. ISSN 15672050. 14:4 (2017) 412. doi: 10.2174/1567205013666160930110551.