

Ana Margarida Carmo Viola

RESVERATROL: DO LABORATÓRIO À CLÍNICA

Monografia realizada no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,
orientada pela Professora Doutora Cláudia Margarida Gonçalves Cavadas
e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho de 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Ana Margarida Carmo Viola, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2011170986, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 5 de Julho de 2016.

(Ana Margarida Carmo Viola)

A Orientadora,

(Professora Doutora Cláudia Margarida Gonçalves Cavadas)

A Aluna,

(Ana Margarida Carmo Viola)

Agradeço

Aos meus **pais** pelo apoio, carinho e por confiarem em mim,
À minha **irmã Joana** por ser uma chata incondicional,
Aos meus amigos que foram como uma segunda família nestes cinco anos:
à **Leonor** pelos desvaneios, à **Cristiana** pelas barras libres,
ao **David** pelas missões impossíveis, ao **Sérginho** pelo seus processos criativos,
à **Laranjas** pela sua veia artística, à **Rolita** pela sua sensatez,
à **Laurita** pelo seu lado maternal, à **Anita** pelo seu entusiasmo
e à **Ritó** pelos seus cozinhados,
Aos **Pharma'excêntricos** e à **Phartuna** pelo desafio,
Ao **Erasmus** pela experiência e abertura de horizontes,
À **Professora Doutora Cláudia Cavadas** e
à **aluna de doutoramento Janete** pela paciência e ajuda nesta última etapa,
A **Coimbra** por tudo aquilo que me ensinou nestes anos
e pelas memórias que daqui levo 'pra vida...

'Never say never, because limits, like fears, are often just an illusion.'

Michael Jordan

RESUMO

O interesse terapêutico do resveratrol tem aumentado nos últimos anos. Apesar do ceticismo em relação à sua biodisponibilidade, evidências crescentes *in vivo* indicam que o resveratrol possui efeito protetor em várias doenças, incluindo nas doenças neurodegenerativas. Um estudo recente demonstrou que o resveratrol foi capaz de diminuir a descoordenação motora em modelos animais da doença de Machado-Joseph (Cunha-Santos et al, 2016). Esta monografia inclui uma revisão bibliográfica dos dados pré-clínicos e clínicos do resveratrol e uma proposta de ensaio clínico com o resveratrol para a doença de Machado-Joseph.

Palavras-chave: resveratrol, SIRT1, restrição calórica, ensaio clínico, doença de Machado-Joseph

ABSTRACT

The potential therapeutics of resveratrol has been improved in recent years. Despite the scepticism concerning its low bioavailability, a growing body of evidence indicates that resveratrol has protective effects in a wide range of diseases, including neurodegenerative diseases. A recent study showed that resveratrol decreased motor incoordination of a mouse model of Machado-Joseph disease (Cunha-Santos et al, 2016). The present work presents a review of the pre-clinical and clinical data on resveratrol and includes a proposal for the use of resveratrol in a clinical trial on Machado-Joseph disease.

Keywords: resveratrol, SIRT1, caloric restriction, clinical trial, Machado-Joseph disease

ÍNDICE

ABREVIATURAS	ii
Notas Introdutórias.....	1
1. Resveratrol	2
1.1. Contextualização histórica.....	2
1.2. Caracterização química	2
1.3. Alvos moleculares do resveratrol	3
1.3.1. SIRT1	4
1.3.2. AMPK	4
1.3.3. Relação entre SIRT1 e AMPK.....	5
1.3.4. Outros mecanismos	6
2. Potencialidade do resveratrol nas doenças neurodegenerativas	7
2.1. Doença de Alzheimer	7
2.2. Doença de Parkinson.....	8
2.3. Doença de Huntington	9
2.4. Doença de Machado-Joseph.....	10
3. Resveratrol em ensaios clínicos.....	12
3.1. Administração.....	12
3.2. Toxicidade e segurança	13
3.3. Resultados	13
3.4. Fatores de variabilidade entre ensaios clínicos	14
4. Biodisponibilidade.....	14
4.1. Estratégias para aumentar a biodisponibilidade do resveratrol	14
5. Proposta de ensaio clínico do resveratrol na doença de Machado-Joseph	15
6. Desafios futuros para a utilização do resveratrol	17
Considerações finais	18
BIBLIOGRAFIA	19
ANEXO I	xxviii
ANEXO II	xxxiv

ABREVIATURAS

RSV – Resveratrol

SIRT1 – desacetilase sirtuína 1

RC – Restrição Calórica

AMPK – proteína cinase ativada por adenosina monofosfato

NAD⁺ – dinucleótido de nicotinamida e adenina

ATG – genes relacionados à autofagia

p53 – proteína supressora tumoral 53

NF-κB – factor nuclear kappa B

HSF1 – fator de transcrição de choque térmico I

FOXO 1 – proteína Forkhead Box O1

PGC-1α – co-ativador-1 alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma

ATP – adenosina trifosfato

ULK1 – proteína cinase serina/treonina

mTOR – alvo mecanístico de rapamicina

LKB1 – cinase hepática B1

CamKKβ – cinase dependente de cálcio/calmodulina

PDEs – fosfodiesterases

cAMP – adenosina 3',5'-monofosfato cíclico

AMP – adenosina 3',5'-monofosfato

ACs – adenil ciclases

PKA – proteína cinase A

COXs – cicloxigenases

Akt, MAPK e NF-κB

Aβ - peptídeos beta-amilóide

APP - proteína transmembranar precursora amilóide

PSEN1 e PSEN2 – genes presenilina 1 e 2

BAG2 – BAG reguladora de chaperonas 2

MPTP – 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine

LC3 – proteína associada ao microtúbulo 1 de cadeia leve 3

ERK – cinase reguladora de sinal Ras extracelular

SCA3 – ataxia espinocerebelosa do tipo 3

DUB – enzima desubiquitinante

UPS – Sistema Ubiquitina Proteassoma

atx3 – Ataxina 3

SARA – Escala de Avaliação e Classificação da Ataxia

IP – Intraperitoneal

DHE – Dose Humana Equivalente

BDI – *Beck Depression Inventory*

BAI – *Beck Anxiety Inventory*

CGI – *Clinical Global Impression*

PGI – *Patient Global Impression*

SF-36 – *Short-Form 36*

CHUC – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Notas Introdutórias

O resveratrol é um polifenol não-flavonóide que se encontra naturalmente em alguns alimentos, tais como, uvas, vinho, amendoins ou mirtilo.

O interesse pelo resveratrol expandiu-se depois de ter sido identificado como sendo um polifenol ativo, que poderia ter ação cardioprotetora por inibir a agregação plaquetária e diminuir os níveis de lipoproteínas de baixa densidade, o considerado “mau” colesterol. Investigações subsequentes sobre as atividades farmacológicas do resveratrol revelaram que esta molécula possui também propriedades antioxidantes, anticancerígenas e anti-inflamatórias (Review at KULKARNI et. al., 2015). Para além disto, em 2003 resveratrol foi descoberto como sendo um ativador da desacetilase sirtuína 1 (SIRT1) (HOWITZ, BITTERMAN e COHEN, 2003). Nos anos que se seguiram, o resveratrol foi extensivamente estudado *in vitro* e *in vivo* nas mais variadas doenças (Review at NOVELLE et al., 2015).

Alguns estudos sugerem que o resveratrol tem efeitos benéficos em doenças metabólicas, como o diabetes e a obesidade, e também em doenças cardiovasculares, cancro e doenças neurodegenerativas (Review at NOVELLE et al., 2015).

Um estudo recente de Cunha-Santos et al. (2016) em murganhos transgénicos modelos da doença neurodegenerativa Machado-Joseph mostrou que a ativação farmacológica de SIRT1 pelo resveratrol reduziu significativamente a descoordenação motora dos animais, um dos principais sintomas da doença. Assim, este estudo deixa em aberto o potencial benéfico do resveratrol nesta doença, sendo um dos objetivos deste trabalho a proposta de um ensaio clínico do resveratrol na doença de Machado-Joseph.

Nesta monografia abordaremos os seus alvos moleculares responsáveis pelos seus efeitos farmacológicos do resveratrol e os seus efeitos benéficos demonstrados em estudos pré-clínicos das doenças neurodegenerativas, em particular nas doenças de Alzheimer, Parkinson, Huntington e Machado-Joseph. Em seguida será abordada uma parte mais translacional do estudo da aplicação do resveratrol na terapêutica e vão ser mencionados alguns ensaios clínicos já realizados, de modo a ter-se percepção da via de administração, dose, posologia, efeitos adversos, etc. Finalmente, o trabalho termina com a proposta de ensaio clínico do resveratrol na doença de Machado-Joseph e desafios futuros daquilo que ainda falta ser estudado e abordado neste tema da transição clínica deste polifenol.

I. Resveratrol

I.1. Contextualização histórica

O resveratrol (RSV) foi isolado pela primeira vez em 1939 dos extratos etanólicos das raízes do heléboro-branco (*Veratrum grandiflorum* O. Loes) (TAKAOKA, 1940).

Em 1976, o RSV foi caracterizado como uma fitoalexina, isto é, um metabolito produzido nas plantas induzido pelo stress como mecanismo de defesa em resposta a condições desfavoráveis, tais como fungos, bactérias, radiação ultravioleta, etc. (LANGCAKE, P., PRYCE, R. J., 1976).

Apesar da sua descoberta no final dos anos 30, foi apenas a partir dos anos 90 que o RSV ganhou alguma relevância na sociedade com a publicação do artigo onde era descrito o “Paradoxo Francês”. Este paradoxo sugeria que a população francesa, que consome um nível relativamente elevado de gorduras saturadas provenientes da sua dieta, tem uma taxa de mortalidade devida a doenças cardiovasculares relativamente baixa, sendo apontado como causa o consumo de vinho (RENAUD et. al., 1992). Nessa altura foi sugerido que o RSV seria o componente do vinho responsável pelo reduzido nível lipídico plasmático (SIEMANN et. al., 1992). No entanto, estas conclusões são controversas, visto que em condições ambientais não extremas, a quantidade de fitoalexina na casca das uvas é muito baixa (0,16-3,54 µg de *trans*-RSV/g) (BAUR et. al., 2006). Assim, o conteúdo de RSV no vinho é muito baixo, variável e imprevisível (PEZZUTO, 2008). Para ingerir 25 mg de RSV ter-se-ia que consumir em média mais de 4 L de vinho tinto (Review at BASTIANETTO et. al., 2015). Para além da casca da uva, o RSV encontra-se noutras espécies vegetais, tais como, mirtilo, amendoins e uvas (BAUR et. al., 2006).

Em 1997, uma publicação na conceituada revista *Science* descrevia, pela primeira vez o potencial anticancerígeno do RSV no cancro da pele (JANG, 1997). A partir desta publicação o número de artigos sobre o potencial do RSV no tratamento de certas doenças aumentou a uma velocidade exponencial (BAUR et. al., 2006).

I.2. Caracterização química

O resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno) é um composto polifenólico, mais concretamente um difenol, que pertence ao grupo dos não-flavonóides, classificando-se como estilbeno, isto é, uma ligação dupla eteno substituída por um grupo fenilo em cada um dos átomos de carbono da ligação (Review at TOMÉ-CARNEIRO et al., 2013). A ligação dupla permite ao RSV uma conformação *cis* e *trans*, tal como representado na Figura 1,

contudo é a conformação *trans* a mais abundante por ser a mais estável (MATTINI et. al., 1995).

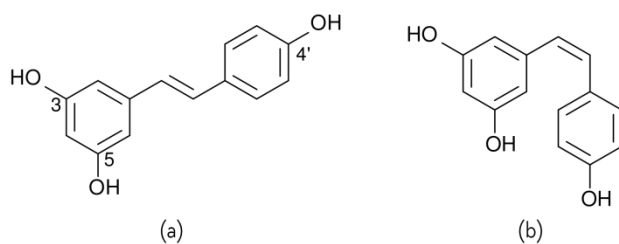


Figura 1 | Estrutura química dos isômeros *trans*-RSV (a) e *cis*-RSV (b) do resveratrol. (Adaptado de Review at BAUR et. al., 2006)

I.3. Alvos moleculares do resveratrol

Apesar de o resveratrol ser uma molécula estudada há quase duas décadas, os mecanismos moleculares responsáveis pelas suas potenciais propriedades terapêuticas permanecem incertos (Review at KULKARNI et. al., 2015). Dado que o RSV possui vários alvos moleculares, o seu potencial terapêutico é muito difícil de ser otimizado. Assim, com o objetivo de traduzir os efeitos do RSV numa aplicação terapêutica, será útil identificar os alvos moleculares responsáveis pelos seus efeitos de forma a desenvolver terapias direcionadas para esses alvos, aumentando, deste modo, a sua eficácia sem ter de aumentar os seus efeitos adversos (Review at CHUNG et. al., 2012).

Nos últimos anos, o resveratrol tem demonstrado propriedades que mimetizam a restrição calórica (RC), que consiste num processo de redução da ingestão calórica entre 30 a 40%, mantendo uma nutrição adequada. A RC aumenta a esperança média de vida na maioria dos animais em que foi testada, inclusive em macacos *Rhesus*, onde também demonstrou reduzir a incidência de diabetes, doenças cardio-vasculares, cancro e neurodegenerescência (COLMAN et al., 2009, 2014).

Autofagia

Um dos possíveis mecanismos benéficos da RC e do RSV, no contexto de envelhecimento e doenças neurodegenerativas, é a indução da **autofagia** (LEVINE et al., 2008). A redução ou disfunção da autofagia tem sido associada a um envelhecimento precoce e a doenças neurodegenerativas, e a estimulação deste processo pode conduzir a efeitos benéficos (MADEO et al., 2010).

Fosforilação oxidativa mitocondrial

A diminuição da **fosforilação oxidativa mitocondrial e da capacidade aeróbica** são igualmente associadas a uma longevidade reduzida. Os benefícios do RSV têm sido atribuídos também à capacidade de aumentar o consumo de energia através do estímulo da respiração mitocondrial e da fosforilação oxidativa (LAGOUGE et al., 2006).

Assim, a autofagia e o aumento da função mitocondrial são dois dos mecanismos induzidos pela RC e pelo RSV através da ativação de dois sensores energéticos: a proteína cinase ativada por adenosina monofosfato (AMPK) (EGAN et al., 2011; KIM et al., 2011) e sirtuína 1 (SIRT1), que atuam juntos na concretização dos efeitos fisiológicos (CANTÓ et al., 2010), tal como será descrito mais abaixo.

1.3.1. SIRT1

O resveratrol pode ativar a SIRT1 diretamente ou indiretamente (Review at KULKARNI et al., 2015). A SIRT1 é uma deacetilase dependente de NAD^+ que atua principalmente no núcleo, mas que pode também aparecer no citoplasma (HAIGIS et al., 2010). O modo como a SIRT1 ativa a autofagia não é totalmente claro, contudo o RSV induz este processo em células anucleadas, sugerindo que a SIRT1 consegue induzir a autofagia por meios não nucleares (MORSELLI et al., 2011), embora também hajam evidências da ativação da autofagia por ação da SIRT1 a nível nuclear (HUANG et al., 2015). Assim, a SIRT1 não só deacetila proteínas ATG (ATG5, ATG7 e ATG8/LC3) envolvidas na autofagia (LEE et al., 2008), como também deacetila fatores de transcrição como o p53, NF- κ B, HSF1, FOXO1, -3, -4, e PGC-1 α (SAUNDERS et al., 2009). Estes fatores de transcrição podem influenciar a expressão da SIRT1.

O PGC-1 α é um alvo de SIRT1 bem estabelecido, que atua como um “maestro” da biogénese mitocondrial (CANTÓ et al., 2010). Após a deacetilação pela SIRT1, o PGC-1 α atua como ativador de inúmeros fatores de transcrição e recetores nucleares, controlando a expressão genética mitocondrial (RODGERS et al., 2005). Deste modo, o RSV conduz a um aumento do conteúdo mitocondrial em tecidos metabólicos chave, tais como, o músculo esquelético ou o tecido adiposo castanho (LAGOUGE et al., 2006).

1.3.2. AMPK

A autofagia pode ser diretamente estimulada pela AMPK, quando os nutrientes são escassos ou quando a razão AMP/ATP aumenta. Nestas condições, a AMPK é ativada e fosforila o ULK1, ativando-o e dando início à autofagia (EGAN et al., 2011; KIM et al., 2011). Para além disto, a AMPK consegue induzir a autofagia pela inibição do mTOR, que é o regulador negativo do processo autofágico (Review at RUBINSZTEIN et al., 2011).

A atividade da AMPK requer pelo menos uma de duas cinases AMPK: a cinase hepática B1 (LKB1) ou a cinase dependente de cálcio/calmodulina (CamKK β), que fosforila o AMPK. Pensa-se que a ativação do AMPK via depleção de energia é dependente do LKB1 e a

ativação através do aumento de Ca^{2+} intracelular dependente de $\text{CamKK}\beta$ (Review at HARDIE et al., 2012).

Após a ativação do AMPK, esta diminui a velocidade da maioria dos processos metabólicos, tal como a biossíntese de lípidos e de proteínas, e ativa os processos produtores de energia, tais como, a beta-oxidação e a glicólise para contrariar a diminuição de energia (Review at HARDIE et al., 2012). Além disto, a AMPK exerce mudanças a longo prazo na homeostase energética, ativando programas de transcrição relacionados com a biogénese de mitocôndrias e o metabolismo oxidativo, tal como o PGC-1 α , para fornecer energia celular (CANTÓ et al., 2010). A ativação da AMPK leva à fosforilação direta do PGC-1 α (JAGER et al., 2007) e, tal como referido anteriormente, a SIRT1 também controla a atividade do PGC-1 α diretamente, mas através da sua deacetilação (RODGERS et al., 2005).

1.3.3. Relação entre SIRT1 e AMPK

Vários estudos têm demonstrado os efeitos metabólicos do RSV, inclusive em células ou murganhos “knockout” para a AMPK, em que a deacetilação dos substratos da SIRT1 não ocorreu, o que indica que a AMPK deverá atuar num passo anterior à SIRT1 (CANTÓ et al., 2010; PRICE et al., 2012; UM et al., 2010). Assim, estes dados sugerem que a AMPK aumenta a atividade da SIRT1 (CANTÓ et al., 2009; FULCO et al., 2008), contudo o mecanismo não é ainda claro.

A ativação da AMPK induzida pelo RSV fornece um mecanismo plausível de como o RSV poderá ativar a SIRT1 indiretamente, uma vez que o AMPK é conhecido por aumentar os níveis de NAD^+ , o que promove a ativação da SIRT1 e a consequente deacetilação dos seus substratos (CANTÓ et al., 2010; CANTÓ et al., 2009; FULCO et al., 2008; UM et al., 2010).

Segundo Park (2012), o RSV ativa a AMPK através da inibição de fosfodiesterases (PDEs), o que leva ao aumento dos níveis de cAMP. Os níveis intracelulares de cAMP são determinados pela atividade de adenil ciclasas (ACs), que convertem o ATP em cAMP, e, por sua vez, de PDEs que hidrolisam cAMP em AMP (CONTI et al., 2007). O RSV não exerce efeito na atividade da AC, mas inibe a atividade das PDEs através da sua ligação no local ativo destas em competição com o cAMP. Em resposta ao aumento dos níveis de cAMP, dá-se a ativação de uma cascata de sinalização que ativa o AMPK, que irá aumentar o conteúdo de NAD^+ , assim como a atividade da SIRT1 (PARK et al., 2012) (Figura 2).

Outro estudo demonstrou ainda que o mecanismo molecular pela qual o RSV conduz à ativação da AMPK é dependente da dose. Neste sentido, doses baixas de RSV (~25 mg/(kg dia) nos murganhos; 25 μM em culturas de miotubos) conduziram a uma ativação do AMPK

dependente do SIRT1, enquanto doses altas de RSV (~220 mg/kg/dia em murganhos; 50 μ M em culturas de miotubos) levaram a uma ativação do AMPK independente do SIRT1 (PRICE et al., 2012). Estes resultados sugerem fortemente que a dose de RSV tem de ser cuidadosamente estudada quando se explora os mecanismos da sua ação e a sua administração.

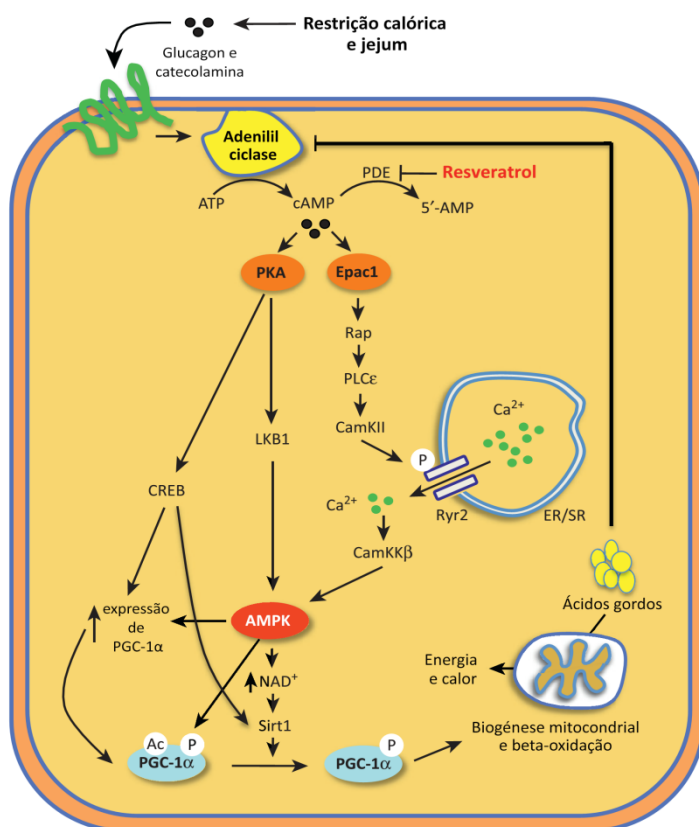


Figura 2 | O RSV mimetiza a restrição calórica através da inibição de PDEs. A privação de comida aumenta os níveis de glucagon e de catecolaminas que irão ligar-se aos seus recetores e aumentar a produção de cAMP através da ativação da adenilil ciclase. O RSV aumenta os níveis de cAMP não pelo aumento da sua produção, mas pela inibição de PDEs que iriam hidrolisá-las. Posteriormente, a proteína cinase A (PKA) e a Epac ativam vias paralelas que conduzem à ativação do AMPK. O fator de transcrição CREB (*cAMP response element binding*), uma vez ativado pela fosforilação da PKA, induz a transcrição de PGC-1 α e SIRT1.

(Adaptado de CHUNG et al., 2012)

1.3.4. Outros mecanismos

A atividade quimiopreventiva do cancro do RSV foi atribuída, inicialmente, à inibição das cicloxigenases (COXs) (JANG, 1997), daí as suas já há muito conhecidas propriedades anti-inflamatórias. Mais recentemente foi proposto que o RSV teria também ação analgésica (BERTELLI et al., 2008).

Todavia, apesar de haver dados que indicam que o RSV inibe a atividade da COX diretamente, há igualmente evidências de que, *in vivo*, o RSV reduz a atividade da COX por mecanismos transcricionais. Neste sentido, o RSV parece reduzir significativamente a transcrição da COX-2 através da sua sub-regulação pela via de Akt, MAPK e NF- κ B (KUNDU et al., 2006; DAS et al., 2007).

2. Potencialidade do resveratrol nas doenças neurodegenerativas

O envelhecimento é o maior fator de risco em doenças neurodegenerativas associadas à idade. Assim, qualquer abordagem, terapêutica ou não terapêutica, que atrase o processo de envelhecimento poderá potencialmente prevenir ou atrasar este tipo de doenças. As sirtuínas poderão ser o alvo terapêutico promissor na neurodegenerescência (Review at DONMEZ, 2012). Atualmente sabe-se que existem sete sirtuínas nos humanos, inclusive a SIRT1 que pode ser ativada pelo RSV, daí o interesse crescente nesta molécula em terapêutica de doenças neurodegenerativas atualmente sem cura. Entre estas doenças encontram-se doenças como a de Alzheimer, Parkinson, Huntington e a de Machado-Joseph, em que a terapêutica disponível apenas consiste no alívio dos sintomas (Review at HERSKOVITS e GUARENTE, 2013).

2.1. Doença de Alzheimer

O primeiro caso da doença de Alzheimer foi observado em 1901 pelo médico Alois Alzheimer (O'BRIEN, 1996). Atualmente, esta doença é uma das doenças neurodegenerativas associadas à idade mais comuns, com aproximadamente 7% dos casos em doentes maiores de 65 anos e cerca de 40% em maiores de 80 anos nos países desenvolvidos (Review at GLASS et al., 2010). Entre os sintomas encontra-se a perda de memória e o declínio cognitivo dos doentes (Review at DONMEZ, 2012).

A doença de Alzheimer é caracterizada pela acumulação de proteínas com conformação incorreta (*misfolded proteins*), neuroinflamação e danos oxidativos, o que leva à disfunção sináptica e posterior morte dos neurónios (Review at W. QUERFURTH e M. LAFERLA, 2010).

Esta patologia é descrita pela presença no cérebro de placas senis e de novos neurofibrilares. As placas senis são agregados extracelulares constituídos por peptídeos beta-amilóide (A β) que, por sua vez, são produtos proteolíticos da proteína transmembranar precursora amilóide (APP), cuja clivagem sequencial é realizada pela β - e γ -secretase, originando os fragmentos A β que convergem em placas senis. Os novos neurofibrilares são agregados intracelulares compostos por proteína tau hiperfosforilada associada a microtúbulos (HARDY e SELKOE, 2002).

Esta doença é geneticamente heterogénea e tem sido relacionada com mutações dominantes no gene que codifica a proteína transmembranar APP e nos genes presenilina 1 e 2 (PSEN1 e PSEN2), que codificam componentes da γ -secretase (HARDY e SELKOE, 2002).

Segundo estudos *in vitro*, o RSV tem um papel importante na inibição da agregação de peptídeos A β ao ligar-se a estes, prevenindo não só a formação de agregados (FU et al., 2014), mas também impedindo o aumento dos agregados A β já formados (GHOBEH et al., 2014). Além disso, o RSV também pode demonstrar um efeito indireto na agregação de peptídeos A β através da estabilização da estrutura de uma proteína transportadora, a transtirretina, que se liga às placas A β , prevenindo a sua agregação (RIBEIRO, SARAIVA e CARDOSO, 2012).

O RSV demonstrou ainda efeitos contra a taupatia associada à doença de Alzheimer em murganhos. Uma proteína essencial para a remoção da proteína tau acumulada, a família molecular BAG reguladora de chaperonas 2 (BAG2), foi reportada como tendo sido significativamente sobrerregulada pelo RSV no córtex do murganho, sugerindo que o RSV pode ser um potencial candidato à remissão da taupatia (PATIL et al., 2013).

O RSV reduziu significativamente o número de microglias ativadas num modelo animal da doença – murganhos APP/PSEN1 – sugerindo que o RSV diminui a neuroinflamação que ocorre na doença (CAPIRALLA et al., 2012).

2.2. Doença de Parkinson

A doença de Parkinson foi inicialmente descrito por James Parkinson em 1817 (KEMPSTER, HURWITZ e LEES, 2007). Esta é a segunda doença neurodegenerativa mais comum, depois do Alzheimer, e estima-se que afeta cerca de 0,3% de toda a população e 1% da população com mais de 60 anos nos países desenvolvidos (Review at de LAU e BRETELER, 2006). Entre os sintomas encontram-se tremores, rigidez muscular, bradicinesia e instabilidade postural, porém, podem-se manifestar também mudanças a nível cognitivo e comportamental, tais como, dificuldade em dormir, *deficit* olfativo e transtornos neuropsiquiátricos (Review at BLESÁ et al., 2012).

A doença de Parkinson é caracterizada pela perda de neurónios dopaminérgicos na substância negra, perda profunda de dopamina no corpo estriado e acumulação intracitoplasmática de corpos de Lewy constituídos por agregados de proteína pré-sináptica α -sinucleína anormal, pós-traducionalmente modificada, e ubiquitina (Review at BLESÁ et al., 2012). Estudos demonstram que existem dois fatores que levam à morte dos neurónios dopaminérgicos: (i) disfunção mitocondrial e stress oxidativo, (ii) proteínas com conformação incorreta e consequentes agregados proteicos (DAUER e PRZEDBORSKI, 2003).

Estudos *in vitro* em fibroblastos com a proteína parkin mutada (segunda causa mais comum desta doença (DAWSON e DAWSON, 2010)), mostraram que o RSV recupera a capacidade respiratória mitocondrial via PGC-1 α destas células. Isto resulta numa melhoria do gasto energético, assim como num aumento da capacidade oxidativa, tal como se pode verificar pelo aumento da atividade do complexo I e do citrato sintase, aumento do consumo basal de oxigénio e na produção de ATP mitocondrial e pela diminuição de lactato (FERRETTA et al., 2014).

Por outro lado, estudos em murganhos de modelo da doença de Parkinson pela utilização do MPTP (1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine), demonstraram que o tratamento com RSV melhorou o *deficit* motor e as mudanças patológicas da doença. Segundo os autores, estes resultados deveram-se à ativação da SIRT1 e consequente deacetilação da proteína associada ao microtúbulo 1 de cadeia leve 3 (LC3) que, por sua vez, participou na degradação autofágica de α -sinucleína anormal. Estas observações sugerem que o RSV poderá ser um potencial agente terapêutico na doença de Parkinson (GUO et al., 2016).

2.3. Doença de Huntington

A doença de Huntington é uma doença hereditária autossómica dominante e é uma das nove doenças de poliglutaminas, sendo a mais frequente entre elas. Entre os sintomas encontra-se disfunção cognitiva, alteração da personalidade e perda da coordenação e função motora (Review at HERSKOVITS e GUARENTE, 2013). Esta doença é causada por uma mutação que leva à repetição do trinucleótido CAG no gene que codifica a proteína huntingtina, conduzindo ao aumento do número de resíduos de glutamina na região amino terminal (N-terminal) desta proteína. Esta mutação irá alterar a conformação da proteína huntingtina, resultando numa agregação anormal desta e, por último, na morte neuronal (LA SPADA, 2012).

As sirtuínas têm sido investigadas como alvo terapêutico no atraso da progressão desta doença de Huntington em culturas celulares e modelos animais (Review at HERSKOVITS e GUARENTE, 2013). Estudos em modelos nematóides e em culturas de neurónios primários possuindo a huntingtina mutante demonstraram que tanto o tratamento com resveratrol como a sobre-expressão de SIRT1 possuem efeitos neuroprotetores sobre a lesão induzida pela citotoxicidade da poliglutamina (PARKER et al., 2005).

Num modelo de doença de Huntington em murganhos, quimicamente induzida por ácido 3-nitropropiónico, os *deficits* motores e cognitivos provocados melhoraram através do tratamento oral com RSV (KUMAR et al., 2006).

A sobre-expressão de SIRT1 e o tratamento com RSV demonstraram também proteger contra a toxicidade em células HEK293T transfectadas com poliglutaminas (LI et al., 2007). Os autores propuseram que a SIRT1 e o RSV exerceram os seus efeitos através da deacetilação de Ku70, uma proteína multifuncional envolvida na reparação do DNA e sobrevivência celular.

Por último, estudos em modelos da doença de Huntington em *Drosophila*, mostraram que o RSV consegue reduzir o impacto da proteína huntingtina mutante através do aumento da fosforilação da cinase reguladora de sinal Ras extracelular (ERK), ativando-a e promovendo assim a neuroprotecção (MAHER et al., 2011).

2.4. Doença de Machado-Joseph

A doença de Machado-Joseph, também conhecida como ataxia espinocerebelosa do tipo 3 (SCA3), foi descrita pela primeira vez em 1972 em famílias americanas com ascendentes nos Açores (NAKANO, DAWSON e SPENCE, 1972). Esta doença faz parte das nove doenças de poliglutaminas e é uma doença hereditária autossómica dominante (COUTINHO e ANDRADE, 1978).

A doença de Machado-Joseph é a ataxia espinocerebelosa mais comum a nível mundial (SCHÖLS et al., 2004) e a segunda doença de poliglutaminas mais comum, depois da doença de Huntington (PRINGSHEIM et al., 2012). Apesar da sua prevalência a nível mundial, a doença de Machado-Joseph é relativamente rara em Portugal continental (1/100 000), contudo é altamente prevalente nos Açores, especialmente na ilha das Flores, onde se encontra a maior prevalência mundial (1/239) (BETTENCOURT et al., 2008).

Em termos clínicos, Machado-Joseph é uma doença bastante heterogénea, porém caracteriza-se principalmente por ataxia progressiva, afetando o equilíbrio, modo de andar e fala. Outros sintomas frequentemente descritos são oftalmoplegia externa progressiva, síndrome piramidal, disartria, disfagia, distonia, rigidez, atrofia muscular distal e visão dupla. Devido ao facto de o espectro clínico desta doença ser altamente pleomórfico, criou-se um sistema de classificação de quatro subfenótipos (PASTORE, BAUER e SCHO, 2008).

Tal como referido anteriormente, a doença de Machado-Joseph pertence ao grupo de doenças de poliglutaminas. Assim, esta doença é causada por uma mutação que leva à repetição do trinucleótido CAG no gene que codifica a proteína ataxina 3, levando ao aumento do número de resíduos de glutamina na região carboxi-terminal (C-terminal) desta proteína. Esta mutação faz com que a ataxina 3 adquira alterações conformacionais que resultam em mudanças nas propriedades de ligação da proteína, perda de função, alteração

da localização celular, assim como da clivagem proteolítica, além de conduzir à formação característica de agregados neuronais intranucleares (PAULSON et al., 1997).

A função biológica precisa da proteína ataxina 3 não está esclarecida (Review at MATOS, MACEDO-RIBEIRO e CARVALHO, 2011), contudo sabe-se que é uma enzima desubiquitinante (DUB) (TODI e PAULSON, 2011), isto é, cliva a ubiquitina de outras moléculas, desempenhando, assim, um papel importante na homeostase proteica pela sinalização com ubiquitina. Esta proteína está então implicada no controlo de qualidade das proteínas celulares, nomeadamente através do sistema ubiquitina proteassoma (UPS), responsável pela degradação de proteínas enroladas incorretamente ou de curto tempo de vida (WARRICK et al., 2005).

Atualmente, a doença de Machado-Joseph é das quatro doenças aqui referidas a que menos foi estudado o potencial da SIRT1 como alvo terapêutico. Uma das potenciais abordagens terapêuticas para esta doença consiste no aumento da degradação da ataxina 3 mutante e dos seus agregados proteicos através da ativação da autofagia (Figura 3), que pode ser efetuada pela SIRT1, tal como já foi demonstrado em estudos anteriores (LEE et al., 2008; EGAN et al., 2011; KIM et al., 2011; MORSELLI et al., 2011). Neste contexto, foi recentemente demonstrado em murganhos transgênicos, modelo da doença de Machado-Joseph, que a administração de resveratrol ativou a SIRT1, o que levou à redução da descoordenação motora nos murganhos através de mecanismos como a redução da neuroinflamação e ativação da autofagia (CUNHA-SANTOS et al., 2016).

Além disso, outros estudos suportam que a indução da autofagia como um alvo terapêutico nesta doença. Menzies et al. (2010) demonstrou que a proteína ataxina 3 mutante é mais suscetível de sofrer autofagia e que este processo induzido nos ratinhos transgênicos pela temsirolimus através da inibição da mTOR, não só diminuiu os níveis de ataxina 3 mutante, como melhoraram o fenótipo motor da doença. Outro estudo recorreu ao uso de vetores virais, nomeadamente lentivírus, para induzir a sobre-expressão da proteína autofágica beclina-1, promovendo assim a ativação da autofagia, aumentando consequentemente a degradação da ataxina 3 mutante e diminuindo os agregados em culturas neuronais e em modelos de ratinhos com doença de Machado-Joseph (NASCIMENTO-FERREIRA et al., 2011, 2013).

Assim, sistemas de *turnover* proteico, tais como a autofagia, que aumenta a degradação da ataxina 3 mutante, representam um alvo terapêutico promissor na doença de Machado-Joseph (Figura 3).

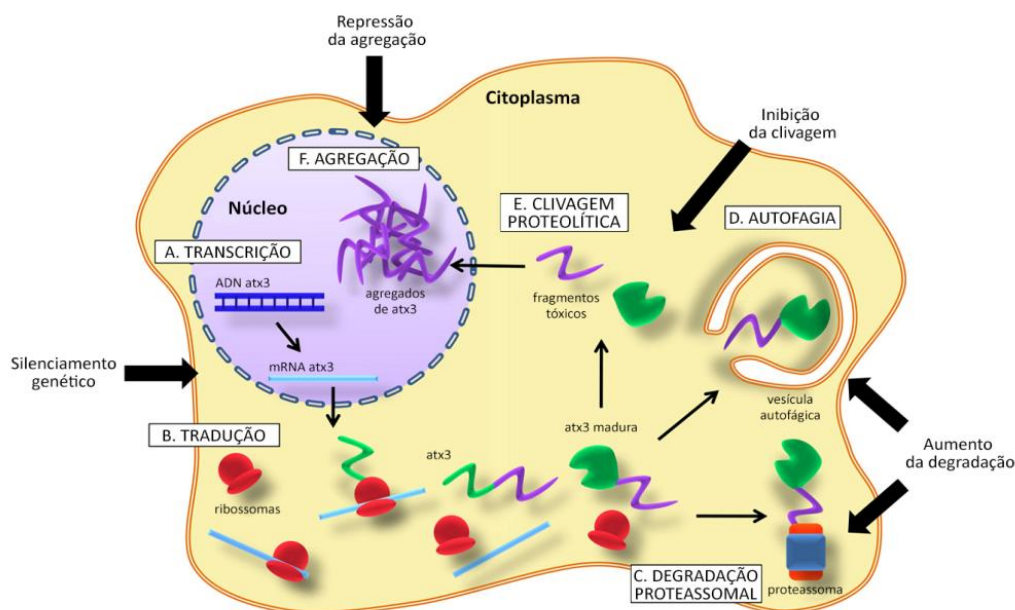


Figura 3 | Possíveis abordagens à terapia de Machado-Joseph. Uma das maiores abordagens é através da eliminação da proteína ataxina 3 (atx3) mutante por silenciamento genético ou por aumento da sua degradação. Outros alvos terapêuticos passam pela inibição da clivagem proteolítica e agregação proteica. (Adaptado de Review at Matos, Macedo-Ribeiro, e Carvalho, 2011)

3. Resveratrol em ensaios clínicos

Antes de 2009, todos os ensaios clínicos concluídos avaliaram a biodisponibilidade, o metabolismo e a toxicidade do resveratrol em humanos. Alguns dos ensaios clínicos recentemente publicados reportam a biodisponibilidade e toxicidade do RSV, contudo, pela primeira vez, referem os efeitos fisiológicos desta molécula na população saudável e em grupos de doentes com várias patologias. Apesar do RSV mostrar efeitos promissores num largo espectro de doenças, os maiores focos dos ensaios clínicos publicados são o cancro, doenças metabólicas e problemas cardiovasculares. O Anexo I contém uma tabela que resume dez recentes ensaios clínicos com resveratrol realizados em doentes com cancro, problemas cardiovasculares, diabetes, obesidade e doenças neurodegenerativas. Os ensaios apresentados foram realizados entre 2011 e 2015, em quatro continentes diferentes (Europa, América do Norte, Ásia e Oceânia), e em grupos que variaram entre os 9 e os 119 participantes.

3.1. Administração

Os ensaios clínicos referidos no Anexo I reportam doses que variam entre 5 mg e 5 g e compreendem várias durações de tratamento, entre, aproximadamente, 14 dias e um máximo de 13 meses. Em todos eles foi usada a via oral, tendo sido maioritariamente usado a cápsula como forma farmacêutica. Apenas foi usado comprimidos num dos ensaios e Resveratrol: do laboratório à clínica | 12

solução aquosa em doentes com cancro do colo-rectal, possivelmente devido aos problemas digestivos associados à doença, facilitando a sua absorção. Analisando os ensaios pode-se verificar a grande variedade de posologia aplicada, variando entre uma, duas ou três tomas ao dia.

3.2. Toxicidade e segurança

A toxicidade do RSV é dose-dependente, isto é, para doses maiores que 0,5 g/dia durante longos períodos de tempo, problemas digestivos, tais como, dor abdominal, náusea, diarreia e flatulência, foram os mais reportados (PATEL et al., 2011). Porém, na globalidade, o RSV é bem tolerado e quando efeitos adversos ocorreram, estes foram moderados e reversíveis, não deixando sequelas (Review at NOVELLE et al., 2015). De qualquer maneira, é necessário realizar mais estudos para avaliar a segurança do RSV para tratamentos a longo prazo.

3.3. Resultados

Nos ensaios clínicos mencionados no Anexo I é possível verificar que o RSV apresenta efeito anticancerígeno (HOWELLS et al., 2011; ZHU et al., 2011), anti-inflamatório (MILITARU et al., 2013; TOMÉ-CARNEIRO et al., 2013; ZHU et al., 2011) e cardioprotetor (MILITARU et al., 2013; TOMÉ-CARNEIRO et al., 2013). Além disso, o RSV mostrou ainda poder alterar o perfil lipídico, aumentando o HDL (MOVAHED et al., 2013), diminuindo o colesterol não-HDL (TOMÉ-CARNEIRO et al., 2013) ou, por outro lado, não alterar de forma significativa o perfil lipídico dos doentes (MILITARU et al., 2013).

Em doentes diabéticos, o RSV diminuiu a resistência à insulina (BRASNYÓ et al., 2011; MOVAHED et al., 2013), assim como os níveis de glicémia em jejum, hemoglobina A1c e insulina num dos estudos.

Timmers et al. (2011) demonstrou no seu estudo que o RSV consegue mimetizar a restrição alimentar em adultos obesos, apresentando resultados como o aumento da fosforilação oxidativa e redução da taxa metabólica de repouso. Apesar destes resultados, Poulsen et al. (2013) não observaram efeitos metabólicos com doses mais baixas de RSV.

Relativamente a doenças neurodegenerativas, só muito recentemente é que foram lançados os resultados dos ensaios clínicos efetuados (Review at NOVELLE et al., 2015). Através do estudo clínico de Turner et al. (2015) foi possível observar que o RSV e os seus maiores metabolitos atravessam a barreira hematoencefálica para exercer os seus efeitos no SNC. Yiu et al. (2015) sugere que podem existir efeitos clínicos e biológicos positivos e independentes em doses altas de RSV na ataxia de Friedreich. Turner et al. (2015) não observaram benefícios significativos em doentes com a doença de Alzheimer e concluíram

que são requeridos estudos adicionais para interpretar as alterações associadas ao RSV nos biomarcadores avaliados. Neste momento, existe ainda um ensaio clínico a decorrer na doença de Huntington (NCT02336633).

3.4. Fatores de variabilidade entre ensaios clínicos

A diferença de resultados entre os ensaios clínicos descritos na Tabela I poderá ser atribuída a fatores como o género, idade e estado de saúde dos participantes, dose de RSV e duração do estudo. Em especial, a grande diferença entre as doses de RSV usadas nos diversos ensaios parece ser um dos fatores que mais afeta a análise de resultados dos diversos estudos.

4. Biodisponibilidade

Ensaio clínicos têm demonstrado que a administração do RSV por via oral, apesar de ter uma elevada absorção, apresenta baixa biodisponibilidade (CHACHAY et al., 2011). A baixa biodisponibilidade é devida não só à sua baixa hidrossolubilidade e instabilidade química, mas principalmente, por sofrer um rápido metabolismo e excreção, passando também pelo ciclo entero-hepático (SMOLIGA, VANG e BAUR, 2012). Estes factos podem justificar discrepâncias entre estudos *in vitro* e *in vivo* (SMOLIGA, VANG e BAUR, 2012).

4.1. Estratégias para aumentar a biodisponibilidade do resveratrol

A partir de ensaios pré-clínicos em animais e de ensaios clínicos já realizados constatou-se que existem algumas estratégias que podem ser adotadas de maneira a aumentar a biodisponibilidade do RSV (AHMED et al., 2016), nomeadamente

- Toma pela manhã, devido à influência do ritmo circadiano no metabolismo e ciclo entero-hepático (ALMEIDA et al., 2009);
- Antes das refeições (Review at BHULLAR e HUBBARD, 2015);
- Refeição com baixo teor em gorduras após a toma (COTTART, NIVET-ANTOINE e BEAUDEUX, 2014);
- Maior número de tomas durante o dia, por exemplo, tomar duas vezes ao dia em vez de uma (ZHU et al., 2011);
- Inibição do metabolismo através da coadministração de inibidores do metabolismo do RSV, por exemplo, a piperina que inibe a glucuronidação (WIGHTMAN et al., 2014);
- Desenvolvimento de sistemas de entrega que estabilizem e protejam o RSV da degradação enzimática, aumentem a sua hidrossolubilidade, permitam uma libertação

prolongada e que direcionem o RSV para localizações específicas, tais como, lipossomas, complexos proteicos, complexos de ciclodextrina, nanopartículas lipídicas;

- Análogos do RSV com maior biodisponibilidade, tais como, RSV metilado que é mais facilmente transportado até às células e é resistente à degradação por inibir a glucuronidação.

Apesar de a biodisponibilidade do RSV ser baixa, existem teorias de que os seus efeitos podem-se dever ao facto de os seus metabolitos serem bioativos (AHMED et al., 2016).

Além disso, apesar do RSV apresentar níveis plasmáticos muito baixos, o RSV foi encontrado nos tecidos, sugerindo que a sua eficácia pode não depender, necessariamente, apenas da sua concentração plasmática (Review at BHULLAR e HUBBARD, 2015). Outro facto interessante, conjugados sulfatados do RSV podem ser absorvidos por certos tecidos e nestes podem sofrer um processo que regenera o metabolito a RSV no interior das células (PATEL et al., 2013).

Um aspeto a ter em consideração quando se tenta aumentar a biodisponibilidade do RSV é o aparecimento de possíveis efeitos adversos, tendo assim que se realizar mais estudos de segurança.

5. Proposta de ensaio clínico do resveratrol na doença de Machado-Joseph

A seguinte proposta de ensaio clínico teve como base o estudo piloto de Zesiewicz et al. (2012), que tinha como objetivo avaliar a eficácia de vareniclina (nome comercial Chantix) em doentes diagnosticados com Machado-Joseph. Neste ensaio irá usar-se a Escala de Avaliação e Classificação da Ataxia (Anexo II), ou escala de SARA em inglês, que consiste em componentes que avaliam a função axial (modo de andar, postura e modo de sentar), discurso e função apendicular (movimentos dos dedos, movimento do dedo ao nariz, movimentos alternados rápidos, deslizamento do calcanhar à tibia).

A dose proposta teve como base o estudo de Cunha-Santos et al. (2016), onde foi administrado pela via intraperitoneal (IP) 10 mg/kg de massa corporal do ratinho. Usando a fórmula abaixo para calcular a Dose Humana Equivalente (DHE) e usando uma média de 70 kg de massa corporal para um adulto, obtemos uma dose de 57mg/70kg. Porém, há que ter em atenção que a dose animal usada para o cálculo foi aplicada pela via IP e que a via que irá ser administrada no ensaio clínico proposto é a via oral. Dada a absorção direta a partir da cavidade peritoneal, a via intraperitoneal apresenta uma biodisponibilidade superior à da via oral. Desta forma, é difícil fazer uma extrapolação direta da dose a administrar dada a

ausência de dados que indiquem a diferença de biodisponibilidade entre ambas para o RSV. Apesar disto, a dose proposta para o estudo não leva em conta este facto.

$$\text{DHE (mg/kg)} = \text{Dose animal (mg/kg)} \times \frac{\text{Km animal}}{\text{Km humano}} = 10 \times 0,08 = 0,8 \text{ mg/kg} = 57 \text{ mg/70 kg}$$

Como esquema de intervenção do ensaio optou-se por um escalonamento de doses, começando nos primeiros dois meses por metade da dose prevista (30 mg/dia), seguindo-se cinco meses a administrar a dose prevista no estudo com animais (60 mg/dia) e nos últimos cinco meses duplica-se a dose (120 mg/dia). O objetivo será verificar se existe diferença significativa em termos de eficácia entre doses. Não há registos de efeitos secundários frequentes em ensaios clínicos já realizados para a dose máxima administrada.

1. Objetivo:

Avaliar a eficácia do resveratrol em doentes diagnosticados com doença de Machado-Joseph.

2. Tipo de ensaio: Intervencional

3. Desenho do estudo:

- Estudo piloto
- Aleatorizado
- 2 grupos paralelos
- Ocultação dupla
- Controlado com placebo (1:1)
- Via oral: Cápsula de 30 mg de *trans*-RSV
- Duração: 12 meses
- Esquema posológico:
 - Mês 1-2: 1 cápsula, 1 vez/dia;
 - Mês 3-7: 1 cápsula, 2 vezes/dia;
 - Mês 8-12: 2 cápsulas, 2 vezes/dia.

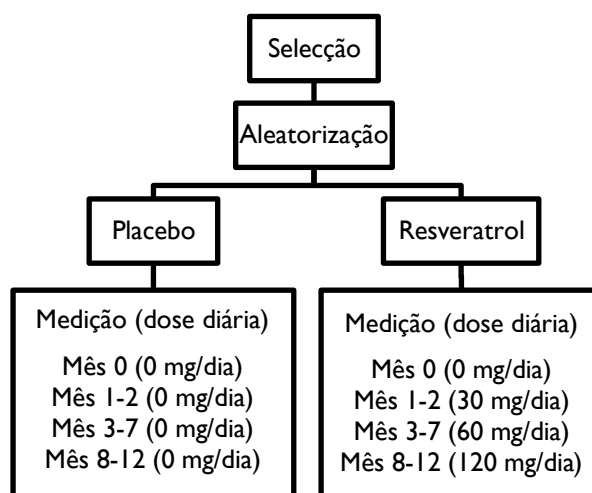


Figura 4 | Desenho do estudo do período I.

4. População em estudo

30 doentes diagnosticados com a doença de Machado-Joseph

4.1. Critérios de inclusão

Doentes diagnosticados com doença Machado-Joseph; idade entre 18-80 anos; análises aos parâmetros bioquímicos metabólicos e sanguíneos e eletrocardiograma 6 meses antes do começo do ensaio; doses estáveis de todas as medicações 1 mês antes do ensaio e durante a duração do estudo; capacidade para caminhar com ou sem assistência; pontuação de 10 ou mais na escala de SARA e pontuação de 3 ou mais na subsecção modo de andar do SARA.

4.2. Critérios de exclusão

Qualquer doença ou medicação concomitante que, na opinião do investigador, impeça a participação do doente neste estudo, incluindo doenças que afetam o modo de andar e o equilíbrio; gravidez ou aleitamento; fumar no momento da seleção ou nos últimos 12 meses; demência ou outra doença psiquiátrica ou outra doença que impeça o consentimento informado; incapacidade legal ou capacidade legal limitada; ingestão de alimentos contendo RSV 30 dias antes; ataxia derivada de outra causa que não a doença de Machado-Joseph.

5. Endpoints

Esquema temporal: medição mensal.

5.1. Primários

Medição de mudanças na pontuação das subescalas de SARA, comparando com os valores de referência para aceder à melhoria da função axial e apendicular.

5.2. Secundários

Outras medições que avaliam a função axial (*timed 25-foot walk*), a função apendicular (*9-hole peg test*) e o impacto no dia-a-dia do doente (*Beck Depression Inventory (BDI)*, *Beck Anxiety Inventory (BAI)*, *Clinical Global Impression (CGI)*, *Patient Global Impression (PGI)* e *Short-Form 36 (SF-36)*).

6. Localização: Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC)

6. Desafios futuros para a utilização do resveratrol

Apesar de haver evidência científica suficiente para considerar o resveratrol um composto com grande interesse para a saúde humana, ainda existem alguns aspetos que necessitam de um maior esclarecimento e estudo complementar, tais como:

- **Alvos celulares.** A identificação e a validação dos alvos celulares do RSV são a chave para a compreensão dos seus benefícios na saúde.

- **Biodisponibilidade.** Novas formulações deverão ser exploradas para melhorar a biodisponibilidade, contudo deverá ser estudado até que ponto é necessário aumentá-la, pois poderão haver mecanismos pelos quais o RSV exerce os seus efeitos sem ter que possuir, necessariamente, níveis plasmáticos elevados, além de poder aumentar os efeitos adversos.

- **Toxicidade.** É necessário identificar novas formas de prevenir os efeitos adversos do RSV, além de uma melhor compreensão da interação do RSV com outros fármacos e dieta.

- **Dose.** Mais ensaios clínicos são necessários para determinar a dose mínima eficaz e posologia e segurança/eficácia das doses para populações alvo particulares.

Considerações finais

Apesar do resveratrol ser uma molécula estudada há quase duas décadas, os mecanismos moleculares responsáveis pelas suas propriedades terapêuticas permanecem incertos. O mecanismo mais aceito é a ativação direta ou indireta da SIRT1, que explica as propriedades do RSV que mimetizam a restrição calórica, pois faz deste um indutor fisiológico da autofagia, promovendo os seus efeitos anti-envelhecimento.

Vários estudos em animais e humanos demonstraram que o RSV é capaz de reduzir a incidência de diabetes, doenças cardiovasculares, cancro e neurodegenerescência. Tendo em consideração a neurodegenerescência, o RSV, sendo um ativador da SIRT1, poderá atuar na degradação dos agregados proteicos comuns nas doenças neurodegenerativas, ativando a autofagia e atuando também no stress oxidativo, bem como na biogénese mitocondrial e neuroinflamação. Além disto, já foi demonstrado em estudos que o RSV consegue atravessar a barreira hematoencefálica para exercer os seus efeitos no cérebro, o que faz desta molécula um potencial fármaco a nível central.

Na proposta de ensaio clínico do resveratrol para a doença de Machado-Joseph, um dos estudos que deverá ser realizado futuramente é a administração em modelos animais pela via intraperitoneal e pela via oral, de maneira a saber a biodisponibilidade relativa das duas vias para que a tradução para uma dose humana equivalente possa ser realizada mais eficientemente.

Apesar do interesse e esforço extensivo, e dos resultados promissores já publicados, muito pouco é conhecido atualmente acerca dos efeitos do RSV em humanos, tanto terapêuticos como tóxicos. Parte do problema pode advir do facto de compostos naturais como o RSV não serem atrativos para as indústrias farmacêuticas, uma vez que o desenvolvimento das suas próprias moléculas permite-lhes uma proteção da patente e benefícios muito maiores.

Muitas divergências têm de ser ainda resolvidas antes de recomendar o uso de RSV como uma alternativa segura e efetiva para prevenir ou tratar doenças em humanos. O futuro passa por ultrapassar barreiras como a identificação dos alvos moleculares do RSV, melhorar a sua biodisponibilidade, assim como, compreender melhor a razão fisiológica por esta ser tão baixa, identificar as possíveis interações com outros fármacos, como diminuir os seus efeitos adversos e qual a dose mínima efetiva para as várias patologias estudadas.

BIBLIOGRAFIA

- A. BERTELLI, M. FALCHI, B. DIB, E. PINI, S. MUKHERJEE, D. K. Das - Analgesic resveratrol? **Antioxid. Redox Signal.** 10:2008) 403–404.
- AHMED, Touqeer *et al.* - Resveratrol and Alzheimer's Disease: Mechanistic Insights. **Molecular Neurobiology.** . ISSN 15591182. 2016) 1–14.
- ALMEIDA, Luis *et al.* - Pharmacokinetic and safety profile of trans-resveratrol in a rising multiple-dose study in healthy volunteers. **Molecular Nutrition and Food Research.** . ISSN 16134125. 53:SUPPL. 1 (2009) 7–15.
- BASTIANETTO, Stéphane; MUNARD, Caroline; QUIRION, Rami - Neuroprotective action of resveratrol. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease.** . ISSN 1879260X. 1852:6 (2015) 1195–1201.
- BAUR, Joseph A.; SINCLAIR, David A. - Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. **Nature Reviews Drug Discovery.** . ISSN 1474-1776. 5:6 (2006) 493–506.
- BETTENCOURT, Conceição *et al.* - Analysis of segregation patterns in Machado-Joseph disease pedigrees. **Journal of Human Genetics.** . ISSN 14345161. 53:10 (2008) 920–923.
- BHULLAR, Khushwant S.; HUBBARD, Basil P. - Lifespan and healthspan extension by resveratrol. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease.** . ISSN 1879260X. 1852:6 (2015) 1209–1218.
- BLESA, Javier *et al.* - Classic and new animal models of Parkinson's disease. **Journal of Biomedicine and Biotechnology.** . ISSN 11107243. 2012:2012).
- BRASNYÓ, Pál *et al.* - Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. **The British journal of nutrition.** . ISSN 1475-2662. 106:3 (2011) 383–9.
- CANTÓ, Carles *et al.* - Interdependence of AMPK and SIRT1 for Metabolic Adaptation to Fasting and Exercise in Skeletal Muscle. **Cell Metabolism.** . ISSN 15504131. 11:3 (2010) 213–219.
- CANTÓ, Carles *et al.* - AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD⁺ metabolism and SIRT1 activity. **Nature.** . ISSN 1476-4687. 458:7241 (2009) 1056–60.
- CANTÓ, Carles; AUWERX, Johan - AMP-activated protein kinase and its downstream transcriptional pathways. **Cellular and Molecular Life Sciences.** . ISSN 1420682X. 67:20 (2010) 3407–3423.
- CAPIRALLA, Hemachander *et al.* - Resveratrol mitigates lipopolysaccharide- and A β -mediated microglial inflammation by inhibiting the TLR4/NF- κ B/STAT signaling cascade.

- Journal of Neurochemistry**. . ISSN 00223042. 120:3 (2012) 461–472.
- CHACHAY, Veronique S. *et al.* - Resveratrol – pills to replace a healthy diet? **British Journal of Clinical Pharmacology**. 72:2011) 27–38.
- CHUNG, Jay H.; MANGANIELLO, Vincent; DYCK, Jason R. B. - Resveratrol as a calorie restriction mimetic: Therapeutic implications. **Trends in Cell Biology**. . ISSN 09628924. 22:10 (2012) 546–554.
- COLMAN, R. J. *et al.* - Caloric Restriction Delays Disease Onset and Mortality in Rhesus Monkeys. **Science**. . ISSN 0036-8075. 325:5937 (2009) 201–204.
- COLMAN, Ricki J. *et al.* - Caloric restriction reduces age-related and all-cause mortality in rhesus monkeys. **Nature communications**. . ISSN 2041-1723. 5:2014) 3557.
- CONTI, Marco; BEAVO, Joseph - Biochemistry and physiology of cyclic nucleotide phosphodiesterases: essential components in cyclic nucleotide signaling. **Annual review of biochemistry**. . ISSN 0066-4154. 76:2007) 481–511.
- COTTART, CHARLES-HENRY, NIVET-ANTOINE, VALERIE AND BEAUDEUX, Jean-Louis - Review of recent data on the metabolism , biological effects , and toxicity of resveratrol in humans. **Mol. Nutr. Food Res**. 2014) 7–21.
- COUTINHO, P, ANDRADE, C. - Autosomal dominant system degeneration in Portuguese families of the Azores Islands. A new genetic disorder involving cerebellar, pyramidal, extrapyramidal and spinal cord motor functions. **Neurology**. 28:1978) 703–709.
- CUNHA-SANTOS, Janete *et al.* - Caloric restriction blocks neuropathology and motor deficits in Machado–Joseph disease mouse models through SIRT1 pathway. **Nature Communications**. . ISSN 2041-1723. 7:May (2016) 11445.
- DAUER, William; PRZEDBORSKI, Serge - Parkinson’s Disease. **Neuron**. . ISSN 08966273. 39:6 (2003) 889–909.
- DAWSON, Ted M.; DAWSON, Valina L. - The role of parkin in familial and sporadic Parkinson’s disease. **Movement Disorders**. . ISSN 08853185. 25:SUPPL. 1 (2010) 32–39.
- DONMEZ, Gizem - The neurobiology of sirtuins and their role in neurodegeneration. **Trends in Pharmacological Sciences**. . ISSN 0165-6147. 33:9 (2012) 494–501.
- EGAN, Daniel F. *et al.* - Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. **Science (New York, N.Y.)**. . ISSN 1095-9203. 331:6016 (2011) 456–61.
- FERRETTA, Anna *et al.* - Effect of resveratrol on mitochondrial function: Implications in parkin-associated familiar Parkinson’s disease. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**. . ISSN 1879260X. 1842:7 (2014) 902–915.

- FU, Z. *et al.* - Capping of abeta42 oligomers by small molecule inhibitors. **Biochemistry**. . ISSN 0006-2960. 53:50 (2014) 7893–7903.
- FULCO, Marcella *et al.* - Glucose Restriction Inhibits Skeletal Myoblast Differentiation by Activating SIRT1 through AMPK-Mediated Regulation of Nampt. **Developmental Cell**. 14:5 (2008) 661–673.
- GHOBEH, Maryam *et al.* - Interaction of A β (25-35) fibrillation products with mitochondria: Effect of small-molecule natural products. **Biopolymers - Peptide Science Section**. . ISSN 10970282. 102:6 (2014) 473–486.
- GLASS, Christopher K. *et al.* - Mechanisms Underlying Inflammation in Neurodegeneration. **Cell**. . ISSN 00928674. 140:6 (2010) 918–934.
- GUO, Yan-Jie *et al.* - Resveratrol alleviates MPTP-induced motor impairments and pathological changes by autophagic degradation of α -synuclein via SIRT1-deacetylated LC3. **Molecular Nutrition & Food Research**. . ISSN 16134125. 2016) 1–36.
- HAIGIS, Marcia C.; SINCLAIR, David A - Mammalian Sirtuins: Biological Insights and Disease Relevance. **Annual review of pathology**. . ISSN 1553-4014. 5:2010) 253–295.
- HANDSCHIN, Christoph; ST, Julie; SPIEGELMAN, Bruce M. - AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1 α . **Proc Natl Acad Sci U S A**. 104:29 (2007) 12017–12022.
- HARDIE, D. Grahame; ROSS, Fiona A.; HAWLEY, Simon A. - AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**. . ISSN 1471-0072. 13:4 (2012) 251–262.
- HARDY, John; SELKOE, Dennis J. - The amyloid hypothesis of Alzheimer’s disease: progress and problems on the road to therapeutics. **Science (New York, N.Y.)**. . ISSN 1095-9203. 297:5580 (2002) 353–356.
- HERSKOVITS, Adrianna Z.; GUARENTE, Leonard - Sirtuin deacetylases in neurodegenerative diseases of aging. **Cell research**. . ISSN 1748-7838. 23:6 (2013) 746–58.
- HOWELLS, Lynne M. *et al.* - Phase I randomized, double-blind pilot study of micronized resveratrol (SRT501) in patients with hepatic metastases - Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. **Cancer Prevention Research**. . ISSN 19406207. 4:9 (2011) 1419–1425.
- HOWITZ, K.; BITTERMAN, J.; COHEN, HY - Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. **Nature**. . ISSN 1476-4687. 425:September (2003) 191–196.
- HUANG, Rui *et al.* - Deacetylation of nuclear LC3 drives autophagy initiation under Resveratrol: do laboratório à clínica

- starvation. **Molecular Cell**. . ISSN 10974164. 57:3 (2015) 456–467.
- J.K. KUNDU, Y.K. SHIN, S.H. KIM, Y. J. Surh - Resveratrol inhibits phorbol ester-induced expression of COX-2 and activation of NF-kappaB in mouse skin by blocking IkappaB kinase activity. **Carcinogenesis**. 27:2006) 1465–1474.
- JANG, M. - Cancer chemopreventive activity of resveatrol, a natural product derived from grapes. **Science**. . ISSN 00368075. 275:5297 (1997) 218–220.
- KEMPSTER, Peter A; HURWITZ, Brian; LEES, Andrew J. - A new look at James Parkinson ' s Essay on the Shaking Palsy. **Neurology**. 69:5 (2007) 482–485.
- KIM, Joungmok *et al.* - AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. **Nature cell biology**. . ISSN 1476-4679. 13:2 (2011) 132–41. doi: 10.1038/ncb2152.
- KULKARNI, Sameer S.; CANTÓ, Carles - The molecular targets of resveratrol. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**. . ISSN 1879260X. 1852:6 (2015) 1114–1123.
- KUMAR, Puneet *et al.* - Effect of resveratrol on 3-nitropropionic acid-induced biochemical and behavioural changes: possible neuroprotective mechanisms. **Behavioural pharmacology**. . ISSN 0955-8810. 17:5-6 (2006) 485–92.
- LAGOUGE, Marie *et al.* - Resveratrol Improves Mitochondrial Function and Protects against Metabolic Disease by Activating SIRT1 and PGC-1?? **Cell**. . ISSN 00928674. 127:6 (2006) 1109–1122.
- LANGCAKE, P. AND PRYCE, R. J. - The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. **Physiol. Plant Pathol**. 9:1976) 77–86.
- LAU, LM; BRETELER, MM DE - Epidemiology of parkinson's disease. **The Lancet Neurology**. . ISSN 18236138. 5:6 (2006) 525–535.
- LEE, In Hye *et al.* - A role for the NAD-dependent deacetylase Sirt1 in the regulation of autophagy. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. . ISSN 1091-6490. 105:9 (2008) 3374–9.
- LEVINE, Beth; KROEMER, Guido - Autophagy in the Pathogenesis of Disease. **Cell**. . ISSN 00928674. 132:1 (2008) 27–42.
- LI, Y. *et al.* - Bax-inhibiting peptide protects cells from polyglutamine toxicity caused by Ku70 acetylation. **Cell death and differentiation**. . ISSN 1350-9047. 14:12 (2007) 2058–67.
- MADEO, Frank; TAVERNARAKIS, Nektarios; KROEMER, Guido - Can autophagy promote longevity? **Nature Cell Biology**. . ISSN 1465-7392. 12:9 (2010) 842–846.
- MAHER, Pamela *et al.* - ERK activation by the polyphenols fisetin and resveratrol provides

- neuroprotection in multiple models of Huntington ' s disease. **Human Molecular Genetics**. 20:2 (2011) 261–270.
- MATOS, Carlos A.; MACEDO-RIBEIRO, Sandra DE; CARVALHO, Ana Lu??sa - Polyglutamine diseases: The special case of ataxin-3 and Machado-Joseph disease. **Progress in Neurobiology**. . ISSN 03010082. 95:1 (2011) 26–48.
- MATTINI, Fulvio; RENIERO, Fabiano; KORHAMMER, Siegfried - Isolation, Characterization, and Evolution in Red Wine Vinification\rof Resveratrol Monomers. **J Agric Food Chem**. 43:1995) 1820–1823.
- MENZIES, Fiona M. *et al.* - Autophagy induction reduces mutant ataxin-3 levels and toxicity in a mouse model of spinocerebellar ataxia type 3. **Brain**. . ISSN 00068950. 133:1 (2010) 93–104.
- MILITARU, Constantin *et al.* - Oral resveratrol and calcium fructoborate supplementation in subjects with stable angina pectoris: Effects on lipid profiles, inflammation markers, and quality of life. **Nutrition**. . ISSN 08999007. 29:1 (2013) 178–183.
- MORSELLI, Eugenia *et al.* - Spermidine and resveratrol induce autophagy by distinct pathways converging on the acetylproteome. **Journal of Cell Biology**. . ISSN 00219525. 192:4 (2011) 615–629.
- MOVAHED, A. *et al.* - Antihyperglycemic effects of short term resveratrol supplementation in type 2 diabetic patients. **Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**. 2013:2013 (2013).
- NAKANO, KK, DAWSON, DM, SPENCE, A. - Machado disease. A hereditary ataxia in Portuguese emigrants to Massachusetts. **Neurology**. 22:1972) 49–55.
- NASCIMENTO-FERREIRA, Isabel *et al.* - Overexpression of the autophagic beclin-1 protein clears mutant ataxin-3 and alleviates Machado-Joseph disease. **Brain**. . ISSN 00068950. 134:5 (2011) 1400–1415.
- NASCIMENTO-FERREIRA, Isabel *et al.* - Beclin 1 mitigates motor and neuropathological deficits in genetic mouse models of Machado-Joseph disease. **Brain**. . ISSN 14602156. 136:7 (2013) 2173–2188.
- NOVELLE, Marta G. *et al.* - Resveratrol supplementation: Where are we now and where should we go? **Ageing Research Reviews**. . ISSN 18729649. 21:2015) 1–15.
- O'BRIEN, Claire - Auguste D and Alzheimer' s disease. **Science**. 273:5271 (1996) 28.
- PARK, Sung Jun *et al.* - Resveratrol ameliorates aging-related metabolic phenotypes by inhibiting cAMP phosphodiesterases. **Cell**. . ISSN 00928674. 148:3 (2012) 421–433.
- PARKER, J. Alex *et al.* - Resveratrol rescues mutant polyglutamine cytotoxicity in nematode and mammalian neurons. **Nature genetics**. . ISSN 1061-4036. 37:4 (2005) 349–350.

- PATEL, Ketan R. *et al.* - Clinical trials of resveratrol. **ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES**. 1215:2011) 161–169.
- PATEL, Ketan R. *et al.* - Sulfate metabolites provide an intracellular pool for resveratrol generation and induce autophagy with senescence. **Science translational medicine**. . ISSN 1946-6242. 5:205 (2013) 205ra133.
- PATIL, Sachin P. *et al.* - Curcumin-induced upregulation of the anti-tau cochaperone BAG2 in primary rat cortical neurons. **Neuroscience Letters**. . ISSN 03043940. 554:2013) 121–125.
- PAULSON, H. L. *et al.* - Intranuclear inclusions of expanded polyglutamine protein in spinocerebellar ataxia type 3. **Neuron**. . ISSN 08966273. 19:2 (1997) 333–344.
- PEZZUTO, John M. - Grapes and Human Health : A Perspective. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2008) 6777–6784.
- POULSEN, MORTEN, M. *et al.* - High-Dose Resveratrol Supplementation in Obese Men : An ... **Diabetes**. 62:4 (2013) 1186–1195.
- PRICE, Nathan L. *et al.* - SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. **Cell Metabolism**. . ISSN 15504131. 15:5 (2012) 675–690.
- PRINGSHEIM, Tamara *et al.* - The incidence and prevalence of Huntington’s disease: A systematic review and meta-analysis. **Movement Disorders**. . ISSN 08853185. 27:9 (2012) 1083–1091.
- RENAUD, S.; LORGERIL, M. DE - Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. **The Lancet**. . ISSN 01406736. 339:8808 (1992) 1523–1526.
- RIBEIRO, Carlos A.; SARAIVA, Maria João; CARDOSO, Isabel - Stability of the Transthyretin Molecule as a Key Factor in the Interaction with A-Beta Peptide - Relevance in Alzheimer’s Disease. **PLoS ONE**. . ISSN 19326203. 7:9 (2012).
- RIESS, Olaf *et al.* - SCA3: neurological features, pathogenesis and animal models. **Cerebellum (London, England)**. . ISSN 1473-4230. 7:2 (2008) 125–37.
- RODGERS, Joseph T. *et al.* - Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α and SIRT1. **Nature**. . ISSN 1476-4687. 434:7029 (2005) 113–118.
- RUBINSZTEIN, David C.; MARIÑO, Guillermo; KROEMER, Guido - Autophagy and aging. **Cell**. . ISSN 00928674. 146:5 (2011) 682–695.
- S. DAS, D. K. Das - Anti-inflammatory responses of resveratrol. **Inflamm. Allergy Drug Targets**. 6:2007) 168–173.
- SAUNDERS, Laura R.; VERDIN, Eric - Stress Response and Aging Peter Principle Packs a Peck. **Science**. 323:February (2009) 1021–1022.

- SCHÖLS, Ludger *et al.* - Autosomal dominant cerebellar ataxias: Clinical features, genetics, and pathogenesis. **Lancet Neurology**. . ISSN 14744422. 3:5 (2004) 291–304.
- SIEMANN, E. H.; CREASY, L. L. - Concentration of the Phytoalexin Resveratrol in Wine. **Am. J. Enol. Vitic.** . ISSN 0002-9254. 43:1 (1992) 49–52.
- SMOLIGA, James M.; VANG, Ole; BAUR, Joseph A. - Challenges of translating basic research into therapeutics: Resveratrol as an example. **Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences**. . ISSN 10795006. 67 A:2 (2012) 158–167.
- SPADA, Albert R. LA - Finding a sirtuin truth in Huntington's disease. **Nature Medicine**. . ISSN 1078-8956. 18:1 (2012) 24–26.
- TAKAOKA, Michio - The Phenolic Substances of white Hellebore (*Veratrum Grandiflorum* Loes fil.) II. **Nippon Kagaku Kaishi**. . ISSN 0369-4208. 60:12 (1939) 1261–1264.
- TIMMERS, Silvie *et al.* - Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. **Cell Metabolism**. . ISSN 15504131. 14:5 (2011) 612–622.
- TODI, SOKOL V. AND PAULSON, Henry L. - Balancing act: deubiquitinating enzymes in the nervous system. **Trends in Neurosciences**. . ISSN 1878-5832. 34:2011) 370–382.
- TOMÉ-CARNEIRO, Jo??o *et al.* - Grape resveratrol increases serum adiponectin and downregulates inflammatory genes in peripheral blood mononuclear cells: A triple-blind, placebo-controlled, one-year clinical trial in patients with stable coronary artery disease. **Cardiovascular Drugs and Therapy**. . ISSN 09203206. 27:1 (2013) 37–48.
- TOMÉ-CARNEIRO, Joao *et al.* - Resveratrol and clinical trials: the crossroad from in vitro studies to human evidence. **Current pharmaceutical design**. . ISSN 1873-4286. 19:2013) 6064–93.
- TURNER, R. S. *et al.* - A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of resveratrol for Alzheimer disease. **Neurology**. . ISSN 1526-632X. 85:16 (2015) 1383–1391.
- UM, Jee-hyun *et al.* - AMP-Activated Protein Kinase – Deficient Mice Are Resistant to the Metabolic Effects of Resveratrol. **Diabetes**. . ISSN 00121797. 59:March (2010) 554–563.
- W. QUERFURTH, HENRY AND M. LAFERLA, Fran - Alzheimer's disease care. **The New England Journal of Medicine**. 4:362 (2010) 329–344.
- WARRICK, John M. *et al.* - Ataxin-3 suppresses polyglutamine neurodegeneration in *Drosophila* by a ubiquitin-associated mechanism. **Molecular Cell**. . ISSN 10972765. 18:1 (2005) 37–48.
- WIGHTMAN, Emma L. *et al.* - Effects of resveratrol alone or in combination with piperine on cerebral blood flow parameters and cognitive performance in human subjects: a randomised, double-blind, placebo-controlled, cross-over investigation. **British Journal**

-
- of Nutrition**. . ISSN 0007-1145. 112:02 (2014) 203–213.
- YIU, Eppie M. *et al.* - An open-label trial in Friedreich ataxia suggests clinical benefit with high-dose resveratrol, without effect on frataxin levels. **Journal of Neurology**. . ISSN 14321459. 262:5 (2015) 1344–1353.
- ZESIEWICZ, T. A. *et al.* - A randomized trial of varenicline (Chantix) for the treatment of spinocerebellar ataxia type 3. **Neurology**. . ISSN 00283878. 78:8 (2012) 545–550.
- ZHU, W, QIN, W, ZHANG, K, ROTTINGHAUS, GE, CHEN, YC, KLIETHERMES, B, SAUTER, ER - Trans-Resveratrol Alters Mammary Promoter Hypermethylation in Women at Increased Risk for Breast Cancer. **Nutr Cancer**. . ISSN 15378276. 4:164 (2011) 393–400.

Patologia	Ref. (Ano de publicação, País, Continente)	Objetivo	Participantes	Desenho do estudo	1. Via de administração 2. Forma farmacêutica 3. Dose 4. Duração	Resultados
Cancro	Howells et al. (2011, Reino Unido, Europa)	Determinar se SRT501 (RVS micronizado, constituído por partículas com menos de 5 mm) é seguro e se gera níveis mensuráveis e farmacologicamente ativos na circulação sanguínea e no fígado.	9 doentes diagnosticados com cancro colo-rectal estado IV e metástases hepáticas que nunca receberam tratamento para o cancro e com hepatectomia agendada \bar{x} = 66 anos (3 placebo, 3 mulheres)	- Estudo piloto - Fase I - Aleatorizado (2:1) - Dupla ocultação - Controlado (com placebo) - 2 Grupos paralelos	1. Oral 2. Solução aquosa 3. 5 g/dia (5 g foram misturados com 4 ml de solução de docusato de sódio e adicionados a 20 ml de água destilada) 4. ~14 dias (10–21 dias) antes da hepatectomia	- SRT501 foi bem tolerado. - Maior biodisponibilidade do RVS do que reportado antes para o RVS não micronizado. - Detecção de SRT501 no tecido hepático e aumento (39%) do conteúdo de caspase-3 clivada (marcador da apoptose) neste tecido.

	Zhu et al. (2012, EUA, América do Norte)	Determinar se o <i>trans</i> -RVS tem efeito dose-dependente na metilação do DNA e expressão de prostaglandina E ₂ (PGE ₂) em humanos.	39 mulheres com risco elevado de sofrer cancro da mama \bar{x} = 58 anos	- Aleatorizado - Dupla ocultação - Controlado (com placebo) - 3 Grupos paralelos (controlo, baixa dosagem e alta dosagem)	1. Oral 2. Cápsula 3. <i>P. cuspidatum</i> com 5 ou 50 mg de <i>trans</i> -RVS, duas vezes por dia (10 ou 100mg/dia) 4. 3 meses	- A metilação do gene RASSF-1 α diminuiu com o aumento dos níveis de <i>trans</i> -RVS na circulação sanguínea e com a diminuição da expressão de PGE ₂ no peito. - Aumento dose-dependente do <i>trans</i> -RVS e do seu metabolito glicuronosídeo
Cardio-vascular	Militaru et al. (2013, Romania, Europa)	Determinar o efeito do RVS, do frutoborato de cálcio (CF) e da combinação de ambos nos biomarcadores de inflamação (<i>proteína C reativa ultra sensível</i> (PCR-us)), biomarcadores da função ventricular esquerda (N-terminal da pró-hormona do peptídeo natriurético do tipo B (NT-proBNP)) e biomarcadores dos	116 doentes diagnosticados com angina de peito estável, divididos em 4 grupos de 29 doentes cada \bar{x} = 65 anos (45 mulheres)	- Aleatorizado - Dupla ocultação - Controlado (sem placebo, controlo não foi aleatorizado) - 4 Grupos paralelos (controlo, Grupo 1 (G1): RVS, Grupo 2 (G2): RVS+CF, Grupo 3 (G3):CF)	1. Oral 2. Cápsula 3. G1: 20 mg/dia de RVS (10 mg de <i>trans</i> -RVS) G2: 20 mg/dia de RVS + 112 mg/dia de CF G3: 112 mg/dia de CF 4. 2 meses	- Diminuição significativa da PCR-us em todos os grupos, tendo sido maior no G3 (39.7%), seguido do G2 (30.3%). - NT-proBNP diminuiu significativamente pelo RVS (G1: 59.7%) e pelo CF (G3: 52.6%), contudo foi a combinação de ambos que foi a mais efetiva (G2: 65.5%). - Em todos os grupos, o perfil lipídico dos doentes não se alterou de forma significativa. - Foi observado uma melhoria na qualidade de vida em doentes que

		lípidos (colesterol total, LDL-c, HDL-c, triglicéridos) em doentes com angina de peito estável.				tomaram RVS e CF (G2).
	Tomé-Carneiro et al. (2013, Espanha, Europa)	Determinar o efeito dose-dependente da suplementação de uva contendo RVS no estado inflamatório e fibrinolítico de doentes com doença arterial coronária estável.	75 doentes com doença arterial coronária estável, divididos em 3 grupos de 25 doentes cada \bar{x} = 59 anos (11 mulheres)	- Estudo piloto - Aleatorizado - Tripla ocultação - Controlado (com placebo) - 3 Grupos paralelos (controlo, Grupo B: extrato de uva (EU), Grupo C: extrato de uva contendo RVS (EU-RVS))	1. Oral 2. Cápsula 3. Grupo C: - 8 mg/dia de RVS durante os primeiros 6 meses - 16 mg/dia de RVS durante os últimos 6 meses 4. 12 meses	- Aumento da adiponectina sérica (9.6 %) e diminuição do inibidor do ativador de plasminógeno-1 (-18.6 %) no grupo EU-RVS. - Colesterol não-HDL diminuiu em ambos os grupos (10.2 % no EU e 13.4 % no EU-RVS). - Inibição de sinais aterotrombóticos em células mononucleares do sangue periférico no grupo EU-RVS. - Não foram observados efeitos adversos.
Diabetes	Brasnyó et al. (2011, Hungria, Europa)	Determinar o efeito do RVS na sensibilidade à insulina nos doentes diabéticos do tipo 2 e explorar os possíveis mecanismos associados.	19 homens com diabetes tipo 2 \bar{x} = 55 anos (9 placebo)	- Aleatorizado - Dupla ocultação - Controlado (com placebo) - 2 Grupos paralelos	1. Oral 2. Cápsula 3. 5 mg, duas vezes por dia (10mg/dia) 4. 1 mês	- Diminuição da resistência à insulina devido, possivelmente, à diminuição do stress oxidativo que leva a uma sinalização da insulina mais eficiente via Akt. - RVS não teve efeito em parâmetros relacionados com o

						funcionamento das células beta. - Não foram observados efeitos adversos.
	Movahed et al. (2013, Irão, Ásia)	Determinar a efetividade do RVS em diminuir a glicémia na presença de tratamento antidiabético <i>standard</i> em doentes diabéticos do tipo 2. Avaliar os efeitos do RVS na insulina, marcadores metabólicos e fatores de risco cardiovascular e concluir se este poderá complementar o tratamento antidiabético, assim como oferecer uma proteção extra.	66 doentes com diabetes tipo 2 \bar{x} = 52 anos (32 placebo, 33 mulheres)	- Estudo piloto - Aleatorizado - Dupla ocultação - Controlado (com placebo) - 2 Grupos paralelos	1. Oral 2. Cápsula 3. 500 mg, duas vezes por dia (1 g/dia) 4. 45 dias	- Diminuição significativa da pressão arterial sistólica, glicémia em jejum, hemoglobina A1c, insulina e resistência à insulina. - Aumento significativo do HDL. - Os marcadores das funções hepáticas e renais não foram alterados no grupo que tomou RVS, indicando que nesta dose e a curto prazo este não teve efeitos nefastos nestes órgãos. - Não foram observados efeitos adversos.
Obesidade	Timmers et al. (2011, Holanda, Europa)	Determinar se o RVS mimetiza os efeitos da restrição calórica através de alterações metabólicas em homens obesos.	11 homens obesos saudáveis \bar{x} = 53 anos	- Aleatorizado - Dupla ocultação - Controlado (com placebo) - 2 Grupos cruzados	1. Oral 2. Cápsula 3. 150 mg/dia 4. 1 mês	- Redução da taxa metabólica de repouso. - Diminuição do consumo de energia pós-prandial e da lipólise no tecido adiposo. - Aumento da fosforilação

						<p>oxidativa.</p> <ul style="list-style-type: none"> - No músculo, RVS ativou AMPK e aumentou os níveis de SIRT1 e da proteína PGC-1α. - RVS induziu alterações metabólicas modestas, mas consistentes que mimetizam a restrição calórica. - Não foram observados efeitos adversos.
	<p>Poulsen et al. (2013, Dinamarca, Europa)</p>	<p>Determinar os efeitos metabólicos da dose alta de RVS em homens obesos.</p>	<p>24 homens obesos saudáveis \bar{x} = 38 anos (12 placebo)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Aleatorizado - Dupla ocultação - Controlado (com placebo) - 2 Grupos paralelos 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Oral 2. Comprimido 3. 500 mg, três vezes por dia (1.5 g/dia) 4. 1 mês 	<ul style="list-style-type: none"> - A produção endógena de glucose manteve-se inalterada. - Não houve efeito na pressão arterial, consumo de energia em repouso, taxa de oxidação de lípidos, ou nos biomarcadores inflamatórios e metabólicos. - Efeitos mais pronunciados são, aparentemente, observados em doses mais baixas.
<p>Neurodegenerativa</p>	<p>Yiu et al. (2015, Austrália, Oceânia)</p>	<p>Determinar a eficácia e segurança de duas doses diferentes de RVS em doentes com ataxia de Friedreich no período de</p>	<p>24 doentes com ataxia de Friedreich \bar{x} = 37 anos (8 mulheres)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Não aleatorizado - Aberto - Não controlado - 2 Grupos paralelos (12 receberam a 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Oral 2. Cápsula 3. 500 mg ou 2.5 g de <i>trans</i>-RVS, duas vezes por dia (1 ou 5 	<ul style="list-style-type: none"> - Não demonstrou efeito nos níveis de frataxina, mas sugere que podem existir efeitos clínicos e biológicos positivos e independentes em doses altas de

		3 meses.		dose baixa e 12 a dose alta)	g/dia) 4. 3 meses	RVS. - Efeitos adversos gastrointestinais foram frequentes (um evento dose-dependente).
Turner et al. (2015, EUA, América do Norte)	Determinar a segurança e tolerabilidade do RVS e estudar a sua farmacocinética em doentes diagnosticados com Alzheimer. Determinar os efeitos do RVS nos biomarcadores e nas imagens por ressonância magnética, assim como nos resultados clínicos.	119 doentes diagnosticados com Alzheimer suave a moderado $\bar{x} = 71$ anos (55 placebo, 68 mulheres)	- Fase 2 - Aleatorizado - Dupla ocultação - Controlado (com placebo) - 2 Grupos paralelos	1. Oral 2. Cápsula 3. Começa com 500 mg, uma vez por dia, e aumenta 500 mg a cada 13 semanas, terminando com 2000 mg (2 cápsulas de 500 mg, duas vezes por dia) 4. 13 meses	- RVS e os seus maiores metabolitos penetraram a BHE para exercer os seus efeitos no SNC. - São requeridos estudos adicionais para interpretar as alterações associadas ao RVS nos biomarcadores, visto que eles sugerem efeitos no SNC, contudo não indicam benefício. - RVS foi seguro e bem tolerado (náusea, diarreia e perda de peso foram os efeitos adversos mais frequentes).	

Scale for the assessment and rating of ataxia (SARA)

<p>1) Gait</p> <p>Proband is asked (1) to walk at a safe distance parallel to a wall including a half-turn (turn around to face the opposite direction of gait) and (2) to walk in tandem (heels to toes) without support.</p> <p>0 Normal, no difficulties in walking, turning and walking tandem (up to one misstep allowed)</p> <p>1 Slight difficulties, only visible when walking 10 consecutive steps in tandem</p> <p>2 Clearly abnormal, tandem walking >10 steps not possible</p> <p>3 Considerable staggering, difficulties in half-turn, but without support</p> <p>4 Marked staggering, intermittent support of the wall required</p> <p>5 Severe staggering, permanent support of one stick or light support by one arm required</p> <p>6 Walking > 10 m only with strong support (two special sticks or stroller or accompanying person)</p> <p>7 Walking < 10 m only with strong support (two special sticks or stroller or accompanying person)</p> <p>8 Unable to walk, even supported</p>	<p>2) Stance</p> <p>Proband is asked to stand (1) in natural position, (2) with feet together in parallel (big toes touching each other) and (3) in tandem (both feet on one line, no space between heel and toe). Proband does not wear shoes, eyes are open. For each condition, three trials are allowed. Best trial is rated.</p> <p>0 Normal, able to stand in tandem for > 10 s</p> <p>1 Able to stand with feet together without sway, but not in tandem for > 10s</p> <p>2 Able to stand with feet together for > 10 s, but only with sway</p> <p>3 Able to stand for > 10 s without support in natural position, but not with feet together</p> <p>4 Able to stand for >10 s in natural position only with intermittent support</p> <p>5 Able to stand >10 s in natural position only with constant support of one arm</p> <p>6 Unable to stand for >10 s even with constant support of one arm</p>
Score	Score
<p>3) Sitting</p> <p>Proband is asked to sit on an examination bed without support of feet, eyes open and arms outstretched to the front.</p> <p>0 Normal, no difficulties sitting >10 sec</p> <p>1 Slight difficulties, intermittent sway</p> <p>2 Constant sway, but able to sit > 10 s without support</p> <p>3 Able to sit for > 10 s only with intermittent support</p> <p>4 Unable to sit for >10 s without continuous support</p>	<p>4) Speech disturbance</p> <p>Speech is assessed during normal conversation.</p> <p>0 Normal</p> <p>1 Suggestion of speech disturbance</p> <p>2 Impaired speech, but easy to understand</p> <p>3 Occasional words difficult to understand</p> <p>4 Many words difficult to understand</p> <p>5 Only single words understandable</p> <p>6 Speech unintelligible / anarthria</p>
Score	Score

5) Finger chase Rated separately for each side Proband sits comfortably. If necessary, support of feet and trunk is allowed. Examiner sits in front of proband and performs 5 consecutive sudden and fast pointing movements in unpredictable directions in a frontal plane, at about 50 % of proband's reach. Movements have an amplitude of 30 cm and a frequency of 1 movement every 2 s. Proband is asked to follow the movements with his index finger, as fast and precisely as possible. Average performance of last 3 movements is rated.			6) Nose-finger test Rated separately for each side Proband sits comfortably. If necessary, support of feet and trunk is allowed. Proband is asked to point repeatedly with his index finger from his nose to examiner's finger which is in front of the proband at about 90 % of proband's reach. Movements are performed at moderate speed. Average performance of movements is rated according to the amplitude of the kinetic tremor.		
0 No dysmetria 1 Dysmetria, under/ overshooting target <5 cm 2 Dysmetria, under/ overshooting target < 15 cm 3 Dysmetria, under/ overshooting target > 15 cm 4 Unable to perform 5 pointing movements			0 No tremor 1 Tremor with an amplitude < 2 cm 2 Tremor with an amplitude < 5 cm 3 Tremor with an amplitude > 5 cm 4 Unable to perform 5 pointing movements		
Score	Right	Left	Score	Right	Left
mean of both sides (R+L)/2			mean of both sides (R+L)/2		
7) Fast alternating hand movements Rated separately for each side Proband sits comfortably. If necessary, support of feet and trunk is allowed. Proband is asked to perform 10 cycles of repetitive alternation of pro- and supinations of the hand on his/her thigh as fast and as precise as possible. Movement is demonstrated by examiner at a speed of approx. 10 cycles within 7 s. Exact times for movement execution have to be taken.			8) Heel-shin slide Rated separately for each side Proband lies on examination bed, without sight of his legs. Proband is asked to lift one leg, point with the heel to the opposite knee, slide down along the shin to the ankle, and lay the leg back on the examination bed. The task is performed 3 times. Slide-down movements should be performed within 1 s. If proband slides down without contact to shin in all three trials, rate 4.		
0 Normal, no irregularities (performs <10s) 1 Slightly irregular (performs <10s) 2 Clearly irregular, single movements difficult to distinguish or relevant interruptions, but performs <10s 3 Very irregular, single movements difficult to distinguish or relevant interruptions, performs >10s 4 Unable to complete 10 cycles			0 Normal 1 Slightly abnormal, contact to shin maintained 2 Clearly abnormal, goes off shin up to 3 times during 3 cycles 3 Severely abnormal, goes off shin 4 or more times during 3 cycles 4 Unable to perform the task		
Score	Right	Left	Score	Right	Left
mean of both sides (R+L)/2			mean of both sides (R+L) / 2		

CAPA:

Jim Shields,
autor da fotografia da capa, autorizou a sua utilização nesta monografia.