

Patrícia Alves Gonçalves

**Epigalocatequina-3-galato (EGCG) na Síndrome de Down**



Faculdade Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2021



EGCG na Síndrome de Down

Patrícia Alves Gonçalves

**Epigallocatequina-3-galato (EGCG) na Síndrome de Down**

Faculdade Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2021

Epigallocatequina-3-galato (EGCG) na Síndrome de Down

---

Patrícia Alves Gonçalves

(assinatura)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa  
como parte dos requisitos para obtenção de grau de  
Mestre em Ciências Farmacêuticas

**Resumo**

A epigallocatequina-3-galato (EGCG) é um dos polifenóis que compõem o chá verde, obtido da *Camellia sinensis*, reconhecido como possuindo imensos benefícios para a saúde humana, nomeadamente na prevenção de vários tipos de doenças, como o cancro, doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, renais e hepáticas. Dentro do grupo dos polifenóis, a EGCG é uma das catequinas responsáveis pela ação antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, anticarcinogénica, antitumoral, antiangiogénica, anti-hipertensiva e reparadora tecidual do chá verde.

A Síndrome de Down é uma alteração específica no genoma causada pela ocorrência de trissomia do cromossoma 21. O fenótipo dos indivíduos portadores desta síndrome é bem característico, diferenciando-se em relação a outras síndromes. Uma cópia extra do gene *DYRK1A* presente no cromossoma 21 resulta numa dificuldade de aprendizagem, défice cognitivo moderado a acentuado e algumas alterações motoras em pessoas portadoras desta síndrome, estando também presente em algumas doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer. Os resultados de vários estudos analisados demonstraram que a EGCG presente em grande quantidade nas folhas de chá verde atua seletivamente e de forma segura ao nível da proteína codificada por este gene, inibindo-a e proporcionando um desenvolvimento cerebral normal.

Efetivamente, estudos feitos em animais e humanos demonstraram que a EGCG é capaz de diminuir a atividade da proteína DYRK1A, controlar o envelhecimento celular precoce, minimizar a disfunção mitocondrial e diminuir o stress oxidativo, promovendo uma melhoria da função cognitiva. Assim, de acordo com a literatura, este polifenol em particular poderá contribuir para um aumento da qualidade de vida das pessoas portadoras de Síndrome de Down. No entanto, é ainda necessário aprofundar a investigação para se perceber quais as doses máximas recomendadas, bem como a idade de início da suplementação com EGCG, de modo a que seja eficaz e com efeitos duradouros.

**Palavras-chave:** Suplementação com EGCG; Polifenol; Chá verde; Síndrome de Down; Doenças neurodegenerativas; Gene *DYRK1A*.

**Abstract**

Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) is one of the polyphenols present in green tea, obtained from *Camellia sinensis*, recognized for its several benefits to human health, namely in the prevention of diverse types of diseases, such as cancer, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, renal and liver diseases. Within the polyphenols group, EGCG is one of the catechins responsible for the antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, anticarcinogenic, antitumoral, antiangiogenic, antihypertensive role and for the tissue repair action of green tea.

Down Syndrome is a specific alteration in the genome, which is caused by the presence of trisomy of chromosome 21. The phenotype of individuals with this syndrome is quite characteristic, differentiating it from other syndrome types. An extra copy of the *DYRK1A* gene present in chromosome 21 results in learning difficulties, a cognitive deficit from moderate to severe, and some motor alterations. It is also present in some neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease. Results of several studies have shown that EGCG is found in large quantities in green tea leaves and acts selectively and safely on the protein codified by this gene, by inhibiting it, which allows a normal development of the brain.

Indeed, studies carried out in animals and humans demonstrated that EGCG is able to decrease *DYRK1A* protein activity, control premature cell aging, minimize mitochondrial dysfunction and reduce oxidative stress, promoting an improvement of cognitive function. Thus, according to the literature, this polyphenol in particular could contribute to an increase of the quality of life of people with Down Syndrome. However, further investigation is necessary to unveil the recommended maximum doses, as well as, the best age to start EGCG supplementation, so that it could be effective and with lasting effects.

**Keywords:** “Food supplements with EGCG”; “Polyphenol”; “Green tea”; “Down Syndrome”; “Neurodegenerative diseases”; “*DYRK1A* gene”.

## **Agradecimentos**

Apesar da escrita desta dissertação de Mestrado ser um trabalho individual, contou com o apoio de algumas pessoas que foram fundamentais para acabar este ciclo e a quem quero deixar o meu maior agradecimento.

À minha orientadora, Professora Doutora Sofia Pereira pelo apoio e disponibilidade durante a realização desta dissertação de fim de curso.

Aos meus pais, Leonel e Helena, que foram as pessoas que tornaram este meu percurso possível, pois sem eles não se teria concretizado, mas sobretudo por serem os meus pilares e ensinarem-me que na vida para alcançar grandes feitos temos de trabalhar, acreditar e confiar, estando desde sempre presentes neste meu caminho, apoiando-me nos objetivos e sonhos de vida.

À minha irmã Joana, sendo ela uma das pessoas mais importantes da minha vida e da qual tenho um enorme orgulho, pois está continuamente presente nos momentos mais importantes e decisivos, conseguindo assim apoiar-me de uma forma incondicional, transmitindo-me confiança e motivação para fazer sempre mais e melhor.

A duas grandes pessoas que contribuíram em muito para a pessoa que sou hoje, os meus avós, Alcino e Teresa por demonstrarem sempre um grande carinho e amizade, mas principalmente por serem um exemplo de vida para mim, ensinando-me a ser fiel a mim mesma e a crer que somos capazes de tudo o que queremos na vida, bastando acreditar e trabalhar nesse sentido para que as coisas no final aconteçam, tendo desta forma para sempre um lugar especial no meu coração.

Assim sendo, e por último, quero deixar o meu sentimento de gratidão àqueles que me rodeiam diariamente como restante família e amigos, sem exceção, e expressar o meu grande e sincero agradecimento a todos eles.

**Índice**

Resumo .....	v
Abstract.....	vi
Agradecimentos .....	vii
Índice de Figuras .....	x
Índice de Tabelas .....	xi
Abreviaturas.....	xii
I. Introdução.....	1
II. A planta do Chá - <i>Camellia sinensis</i> .....	4
2.1. Chá verde.....	5
2.2. Polifenóis.....	6
III. Epigallocatequina-3-galato .....	9
3.1. Absorção, distribuição, metabolização e excreção da epigallocatequina-3-galato.....	10
3.2. Benefícios da epigallocatequina-3-galato.....	12
i. Atividade antioxidante da epigallocatequina-3-galato .....	13
ii. Atividade neuroprotetora da epigallocatequina-3-galato .....	14
iii. Atividade anti-inflamatória da epigallocatequina-3-galato.....	14
3.3. Importância da epigallocatequina-3-galato nas doenças neurodegenerativas .....	15
i. Doença de Alzheimer .....	16
ii. Doença de Parkinson .....	18
IV. Síndrome de Down.....	19
4.1. Etiologia .....	21
4.2. Diferentes formas de diagnóstico .....	24
4.3. Características fenotípicas e clínicas .....	25
4.4. Fatores de risco associados.....	27
4.5. Cromossoma 21 .....	28

4.6. Capacidade intelectual.....	30
V. A importância da epigallocatequina-3-galato na Síndrome de Down.....	33
5.1. Gene <i>DYRK1A</i> e mecanismo de ação.....	35
5.2. Déficit de energia mitocondrial e stress oxidativo.....	38
5.3. Estudos em modelos animais.....	42
5.4. Ensaios clínicos em humanos.....	44
VI. Suplementação com epigallocatequina-3-galato.....	47
VII. Conclusão.....	50
VIII. Bibliografia.....	51

**Índice de Figuras**

<b>Figura 1.</b> Planta <i>Camellia sinensis</i> (adaptada de Köhler, 1887). .....	4
<b>Figura 2.</b> Projeção para 2023 da produção de chá verde, em comparação com o ano 2013 (em mil toneladas) (adaptada de FAO, 2015).....	5
<b>Figura 3.</b> Estruturas químicas das quatro principais catequinas do chá verde (adaptada de Singh et al., 2016).....	9
<b>Figura 4.</b> Metabolização e excreção da EGCG (adaptada de Xing et al., 2019).....	11
<b>Figura 5.</b> Benefícios da EGCG (adaptada de Singh et al., 2016). .....	13
<b>Figura 6.</b> Ação da EGCG na doença de Alzheimer (adaptada de Ettcheto et al., 2019). .....	17
<b>Figura 7.</b> Cariótipo de um indivíduo do sexo feminino portador de SD (adaptada de <i>National Down Syndrome Congress</i> , 2020). .....	21
<b>Figura 8.</b> Cariótipo de um indivíduo com SD por translocação entre o cromossoma 21 extra e o cromossoma 14 (adaptada de <i>National Human Genome Research Institute - Modified from [(Human Genome Project)]</i> , 2013). .....	23
<b>Figura 9.</b> Representação esquemática do mosaicismo (adaptada de Kozma, 2007). ....	24
<b>Figura 10.</b> Fatores de risco para o nascimento de uma criança com SD (adaptada de Coppedè, 2016).....	28
<b>Figura 11.</b> Representação do cromossoma 21 (adaptada de Kozma, 2007).....	29
<b>Figura 12.</b> Fatores que contribuem para as alterações no neurodesenvolvimento observadas na SD (adaptada de Vacca et al., 2019). .....	31
<b>Figura 13.</b> Alvos de fosforilação da proteína DYRK1A no cérebro (adaptada de Wiseman et al., 2009). .....	36
<b>Figura 14.</b> Possíveis mecanismos de ação do gene <i>DYRK1A</i> (adaptada de Feki & Hibaoui, 2018).....	37
<b>Figura 15.</b> Disfunções mitocondriais na SD (adaptada de Valenti et al., 2018).....	39
<b>Figura 16.</b> Efeitos da EGCG na mitocôndria e na SD (adaptada de Valenti et al., 2018). .....	40
<b>Figura 17.</b> Atuação da EGCG nos diferentes processos da mitocôndria (adaptada de Shi et al., 2018). .....	42

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Bebidas consumidas no cotidiano que contêm polifenóis (adaptada de Marquardt & Watson, 2014).....	6
<b>Tabela 2.</b> Alimentos consumidos no cotidiano que contêm polifenóis (adaptada de Marquardt & Watson, 2014).....	7
<b>Tabela 3.</b> Resumo das principais datas na história da SD (adaptada de Megarbane et al., 2009).....	20
<b>Tabela 4.</b> Principais características fenotípicas da SD (adaptada de Mazurek & Wyka, 2015).....	25

## Abreviaturas

$\beta$ A	Placas $\beta$ -amiloides
AA	Ácidos aromáticos
a.C.	Antes de Cristo
ADME	Administração, distribuição, metabolismo e excreção
AMPK	Cinase ativada pela adenosina monofosfato ( <i>Adenosine Monophosphate-activated Protein Kinase</i> )
ATP	Adenosina trifosfato
BHE	Barreira hematoencefálica
COVID-19	Doença provocada pelo SARS-CoV 2 ( <i>Coronavirus disease 2019</i> )
CDK	Cinase dependente de ciclina ( <i>Cyclin Dependent Kinase</i> )
DA	Doença de Alzheimer
d.C.	Depois de Cristo
DP	Doença de Parkinson
DYRK1A	Cinase 1A regulada por fosforilação de tirosina de dupla especificidade ( <i>Dual Specificity Tyrosine (Y) Phosphorylation Regulated Kinase 1A</i> )
EC	Epicatequina
ECG	Epicatequina-3-galato
EGC	Epigalocatequina
EGCG	Epigalocatequina-3- galato
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura ( <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i> )

FISH	Hibridização <i>in situ</i> de fluorescência ( <i>Fluorescence in situ Hybridization</i> )
GA	Ácido gálico ( <i>Gallic acid</i> )
GABA	Ácido gama-aminobutírico ( <i>Gamma-aminobutyric acid</i> )
GPx	Glutathione peroxidase
KEAP1	Proteína 1 associada à ECH do tipo <i>Kelch</i> ( <i>Kelch-like ECH Associated Protein 1</i> )
M4	5-(3',4',5'- trihidroxifenil)- $\gamma$ -valerolactona)
NFATc	Fator nuclear das células T ativadas ( <i>Nuclear Factor of Activated T cell cytoplasmic</i> )
NOAEL	Nível sem efeitos adversos observáveis ( <i>No Observed Adverse Effects Level</i> )
NPC	Células neuroprogenitoras ( <i>Neuroprogenitor cells</i> )
NRF2	Fator nuclear 2 relacionado ao eritroide 2 ( <i>Nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i> )
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Ácidos fenólicos ( <i>Phenolic acids</i> )
PGC-1 $\alpha$	Coativador 1-alfa do recetor gama ativado por proliferadores do peroxissoma ( <i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha</i> )
PPA	Proteína precursora amiloide
QF-PCR	Reação em cadeia de polimerase por fluorescência quantitativa ( <i>Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction</i> )
QI	Quociente de inteligência

REST/NRSF	Fator silenciador restritivo de neurónios ( <i>RE1-Silencing Transcription Factor/Neuron Restrictive Silencer Factor</i> )
ROS	Espécies reativas de oxigénio ( <i>Reactive oxygen species</i> )
SARS-CoV-2	Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 ( <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i> )
SD	Síndrome de Down
Sirt1	Sirtuína 1
SNC	Sistema nervoso central
SOD	Superóxido dismutase
T máx	Tempo necessário para se atingir a concentração sanguínea máxima

## I. Introdução

A Síndrome de Down (SD) ou trissomia 21, embora muito estudada cientificamente, continua a ser um tema sensível em pleno Século XXI, apresentando a população em geral ainda grande desconhecimento acerca desta síndrome (Tomasmyspecialbaby, 2016). Além de existirem na sociedade algumas ideias erradamente concebidas, muitas vezes não há qualquer tipo de preparação psicológica para enfrentar, aceitar as particularidades e características clínicas que esta síndrome traz consigo e perceber até que ponto do desenvolvimento estas crianças podem ir e que percepções têm de si mesmas e dos que os rodeiam (*Global Down Syndrome Foundation*, 2018).

Na sociedade em que vivemos estão cada vez mais intrínsecos os padrões de beleza que a própria comunidade estabelece, sendo que as pessoas que não se enquadram nesses padrões por qualquer razão, por vezes são sujeitas a discriminação, por parte da mesma. Está descrito que pais de crianças com deficiências intelectuais/cognitivas, e que saem dos padrões pré-estabelecidos como normais, receiam que o seu filho/a venha a sofrer algum tipo de preconceito/discriminação em alguma fase da sua vida (Ribeiro & Silva, 2017). A SD corresponde a uma alteração genética cuja condição física se enquadra neste tipo de problemática, ocorrendo características físicas muito próprias nos indivíduos que a possuem. Para além disso, devido à presença do cromossoma 21 extra, origina anomalias no desenvolvimento pelo que estes indivíduos apresentam uma maior probabilidade de comprometimento da saúde ao nível dos sistemas nervoso central, cardíaco e intestinal. Devido ao facto da evolução do sistema nervoso ser afetada, o desenvolvimento cognitivo fica comprometido, sendo esta uma das características mais evidentes da SD (Stagni et al., 2017).

Acredita-se que o gene que codifica a cinase 1A regulada por fosforilação de tirosina de dupla especificidade, *DYRK1A*, presente no cromossoma 21, está fortemente associado às alterações cerebrais observadas nesta síndrome e que o tratamento com epigallocatequina-3-galato (EGCG), numa fase inicial, beneficia em muito o desempenho cognitivo (Feki & Hibaoui, 2018; Stagni et al., 2017).

Uma das bebidas mais consumidas no mundo é o chá (Bennetzen, 2019). O chá verde é cada vez mais estudado, devido a uma elevada concentração de flavonoides e aos seus benefícios protetores contra doenças degenerativas (Chakrawarti et al., 2016).

É das folhas da *Camellia sinensis* que deriva o chá, e é a partir da técnica aplicada de oxidação e fermentação que se fabrica diversos tipos de chás, como o verde, o branco, o

Oolong e o preto (Chakrawarti et al., 2016). O chá verde é constituído, maioritariamente, por catequinas, designadas de flavanóis, capazes de prevenir algumas doenças, tais como as neurodegenerativas, cancro e diabetes (Afzal et al., 2015). Existem quatro catequinas que se destacam das restantes devido às suas concentrações e formas estruturais: a epicatequina (EC), a epigalocatequina (EGC), a epicatequina-3-galato (ECG) e a epigalocatequina-3-galato (EGCG). A EGCG é a que existe em maior percentagem, cerca de 50-80%, o que corresponde a 200-300 mg numa chávena de chá verde (Singh et al., 2016). A EGCG foi descrita como tendo efeito antioxidante, anti-inflamatório, antimicrobiano, entre outros (Chakrawarti et al., 2016).

Existem estudos que comprovam o real benefício da EGCG no desenvolvimento cognitivo, na concentração e memória em indivíduos com SD conjuntamente com outros estímulos. Curiosamente, esses estudos demonstraram que o tratamento de crianças com EGCG em conjunto com uma maior estimulação cognitiva por parte dos cuidadores e educadores, acabaram por criar efeitos mais prolongados deste tratamento em relação às crianças cujo tratamento se fez apenas com a ação da EGCG sem qualquer outra componente associada (de la Torre et al., 2016; Stagni et al., 2017; Vacca et al., 2016; Vacca et al., 2019).

Apesar dos seus promissores benefícios, a biodisponibilidade, estabilidade e solubilidade da EGCG, em conjunto com alguns fatores como temperatura, pH do estômago, efeito de primeira passagem, luz, interação com alguns alimentos, poderão inibir a sua ação e impossibilitar a demonstração dos seus reais benefícios (Singh et al., 2016).

O objetivo desta dissertação é entender até que ponto é que os estudos que comprovam os benefícios da EGCG na doença de Alzheimer (DA) e na doença de Parkinson (DP), bem como os que começam a surgir associados à SD, podem ser usados para justificar a utilização desta catequina como tratamento adjuvante recomendado na SD.

Para elaboração desta dissertação foi realizada uma revisão bibliográfica, utilizando-se literatura publicada entre 2005 e 2021, como livros e artigos científicos encontrados nas bases de dados *PubMed*, *Science Direct* e *Google Académico*. A ferramenta bibliográfica usada para selecionar e organizar as várias referências bibliográficas encontradas foi o *Endnote*. A procura foi feita a partir dos seguintes descritores: Síndrome de Down; Deficiência intelectual; Trissomia 21; Chá verde; Cromossoma 21; Polifenol EGCG; Suplementação com EGCG; Gene *DYRK1A*. Para a seleção das fontes, foram considerados como critérios de inclusão publicações relevantes para o tema escolhido e

escritas em inglês ou português e como critérios de exclusão qualquer publicação que não se incluísse na temática e que não estivesse escrita em língua inglesa ou portuguesa.

## II. A planta do Chá - *Camellia sinensis*

O chá é extraído da planta *Camellia sinensis* (Figura 1) e é uma das bebidas mais consumidas e industrializadas no mundo, tendo sido descoberto por volta do ano 2700 a.C. (Zanwar et al., 2014), daí ser considerado uma das bebidas mais antigas conhecidas. Atualmente existem seis variedades principais de chá disponíveis para consumo, tendo como base as diferentes técnicas de fermentação e oxidação (Xing et al., 2019). Esta planta necessita de estar sujeita a determinadas condições, tais como: clima húmido e quente, temperaturas a variar entre os 10-30°C, uma precipitação anual mínima de 1250 mm, solos ácidos, encostas e com uma elevação de até 2000 metros. No mundo, os locais de cultivo sob estas condições são bastante limitados, fazendo com que a produção da *Camellia sinensis* seja reduzida. Além disso, estas condições estão a sofrer modificações devido às alterações climáticas significativas que se têm verificado ao longo do tempo, o que põe em risco o cultivo desta planta (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 2015).



**Figura 1.** Planta *Camellia sinensis* (adaptada de Köhler, 1887).

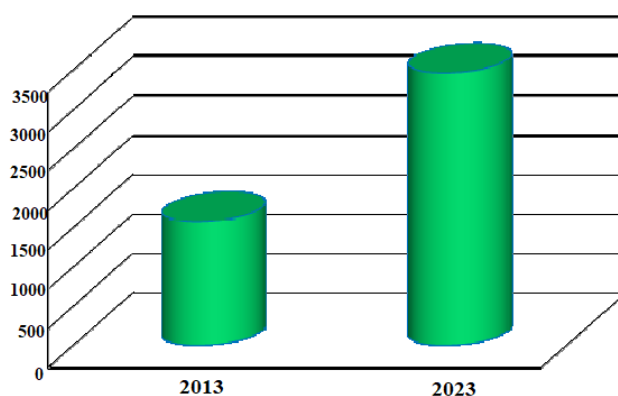
Em 1835, no distrito de Lakhimpur, em Assão, na Índia, foi aberto o primeiro jardim de chá. Sabe-se também que foi o monge japonês Eisai que, no ano 1211 d.C., escreveu e publicou o primeiro livro científico sobre chá, intitulado *Kissa-yojoki*. No século XVI, a população europeia utilizava extratos de chá para melhorar o mau estar associado a dores e febre (Zanwar et al., 2014).

A *Camellia sinensis* dá origem a diversos chás, como preto, verde e Oolong, muito conhecidos pela população de todo o mundo, havendo milhares de pessoas que consomem esta bebida devido aos inúmeros benefícios que a mesma traz para a saúde (Pervin et al., 2018). O chá preto é o mais produzido a nível mundial, correspondendo a cerca de 78% da produção, e é maioritariamente consumido nos países ocidentais. O chá verde corresponde a cerca de 20%, com mais consumo nos países asiáticos, e o chá Oolong apresenta a menor percentagem de produção (2%), que ocorre essencialmente no sul da China (Shen et al., 2014).

## 2.1. Chá verde

O chá verde tem sido alvo de muitos estudos nos últimos tempos devido aos efeitos das catequinas que o constituem pois, em diversas pesquisas, constatou-se que estas têm poder antioxidante e potencial neuroprotetor, possuindo uma variedade de benefícios contra alguns tipos de distúrbios neurológicos, doenças inflamatórias, cancro, obesidade, diabetes, entre outras patologias (Carrasco-Pozo et al., 2019; Hodges et al., 2019; Landini et al., 2020; Liu et al., 2020; Pervin et al., 2019; Xu et al., 2020).

A Organização para a Alimentação e Agricultura das Nações Unidas (FAO) fez uma projeção a 10 anos para verificar como se alteraria a taxa de produção mundial do chá verde do ano 2013 para o ano 2023 (Figura 2). É esperado que a produção de chá verde cresça a uma taxa de 8,2% anuais, atingindo uma produção de 2,97 milhões de toneladas até ao ano 2023, sendo que esta será muito mais rápida comparativamente à do chá preto, embora este último seja atualmente o chá mais produzido no mundo (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 2015).



**Figura 2.** Projeção para 2023 da produção de chá verde, em comparação com o ano 2013 (em mil toneladas) (adaptada de FAO, 2015).

Existem cada vez mais estudos que retratam os benefícios de várias plantas na prevenção de certas doenças e/ou no retardamento das mesmas. O chá verde é uma das bebidas que possui mais compostos bioativos, nomeadamente catequinas, na sua constituição em relação a outras, estando por isso em constante estudo (Pervin et al., 2019). É a partir das folhas maduras da planta e sem o processo de fermentação que ocorre a produção deste chá, diferindo no modo de fabrico do chá preto e Oolong (Reygaert, 2018) - o chá Oolong é semi-fermentado e o chá preto é fermentado - no caso do chá verde o processo de fabrico envolve a cozedura das folhas maduras, evitando desta forma a oxidação dos seus compostos (Xing et al., 2019).

Nas folhas do chá verde, os constituintes primordiais são os polifenóis, correspondendo a cerca de 30% do peso seco da folha. Na restante composição química das folhas do chá verde encontram-se (em % peso seco): proteínas (15-20%), hidratos de carbono (5-7%), minerais e oligoelementos (5%), aminoácidos (1-4%), quantidades vestigiais de lípidos, vitaminas (como as vitaminas B, C e E), pigmentos e compostos voláteis. Contêm ainda 3-4% de metilxantinas, como cafeína, teofilina e ácidos fenólicos (Chowdhury et al., 2016).

## 2.2. Polifenóis

Foi nos anos cinquenta que a palavra polifenol surgiu pela primeira vez, tendo como significado “compostos que contêm vários anéis fenol”. Estes podem ser facilmente encontrados em plantas, frutas e alimentos bioativos, sendo ingeridos em abundância pela população na sua alimentação diária (Sharma, 2014) (Tabelas 1 e 2).

**Tabela 1.** Bebidas consumidas no quotidiano que contêm polifenóis (adaptada de Marquardt & Watson, 2014).

Bebida	Nº de polifenóis existentes
Café	40
Cerveja	69
Chá (preto, infusão)	59
Chá (verde, infusão)	46
Vinho tinto	108
Vinho rosé	40
Vinho branco	72

**Tabela 2.** Alimentos consumidos no quotidiano que contêm polifenóis (adaptada de Marquardt & Watson, 2014).

<b>Alimentos</b>	<b>Nº de polifenóis existentes</b>
Maçã	63
Amora	88
Mirtilo	86
Brócolo cru	32
Cenoura crua	43
Cacau em pó	34
Uva preta	72
Uva verde	46
Alface verde, crua	38
Azeitona verde, crua	38
Azeitona preta, crua	43
Azeite virgem	41
Framboesa	55
Morango	79
Tomate cru	46

Os polifenóis desempenham um papel importante na saúde pública, visto que são os compostos bioquímicos com maior atividade antioxidante na dieta. Tendo isto em conta, é também na área da nutrição que estes poderosos antioxidantes, presentes em bebidas e alimentos, são cada vez mais investigados. Existem cerca de 200/300 mg de polifenóis por 100 g de peso fresco em algumas frutas e 100 mg de polifenóis num copo de vinho tinto, numa chávena de chá ou de café (Marquardt & Watson, 2014).

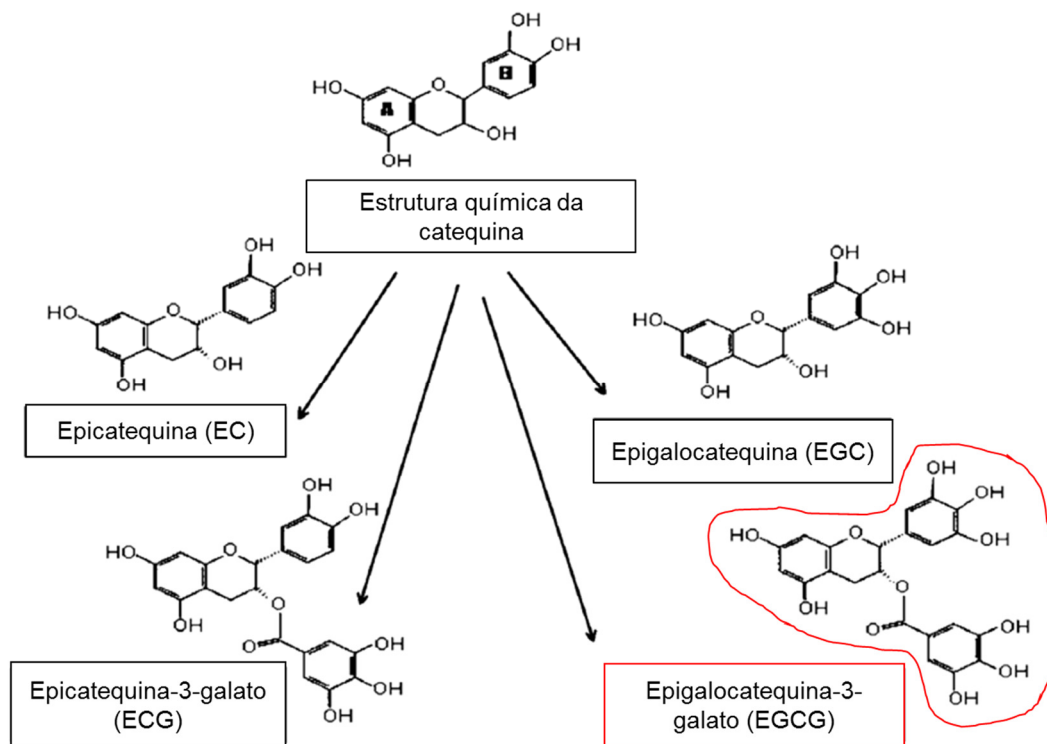
Existem cada vez mais estudos que comprovam a ação dos polifenóis vegetais, como as catequinas, o resveratrol, antocianinas e terpenos no tratamento ou prevenção de certas doenças crónicas, como o cancro, a DA, a DP, diabetes, entre outras (Afzal et al., 2015; Di Meo et al., 2020; Koch, 2019; Oz, 2017; Serino & Salazar, 2018; Shirakami et al., 2016; Xing et al., 2019).

Para que as pessoas cuidem da sua saúde precisam de se centrar nos três níveis de prevenção: primária, secundária e terciária. Prevenir uma doença ou condição antes que ela ocorra é o que constitui a prevenção primária, a prevenção secundária consiste na diminuição do avanço da doença, o que pode ser conseguido por mudança de determinados hábitos no nosso quotidiano, e a prevenção terciária consiste em tentar encontrar formas de reduzir as limitações face a alguma doença ou deficiência, tendo os

polifenóis um papel importante em cada uma destas fases de prevenção (Marquardt & Watson, 2014). Nos alimentos, os flavonoides podem ser classificados como compostos ativos, entre os quais se encontram as flavonas, as flavononas, os flavanóis – catequinas, as isoflavonas, as antocianinas, entre outros, sendo estes considerados polifenóis verdadeiros (Sharma, 2014).

### III. Epigalocatequina-3-galato

No chá verde, como já mencionado, os quatro flavonoides principais e mais abundantes, também chamados de catequinas, são a EC, a EGC, a ECG e a EGCG (Figura 3) (Singh et al., 2016).



**Figura 3.** Estruturas químicas das quatro principais catequinas do chá verde (adaptada de Singh et al., 2016).

A catequina principal extraída deste chá é a EGCG, estando a sua ingestão associada a melhorias na saúde em geral, devido às suas propriedades anticancerígenas, antibacterianas, antioxidantes, anti-inflamatórias, antialérgicas, entre outras. Existem já inúmeros estudos que comprovam o seu potencial terapêutico em doenças crônicas, tais como doenças neurodegenerativas, doenças cardiovasculares, diabetes, doenças pulmonares e cancro (Afzal et al., 2015; Chakrawarti et al., 2016; Chowdhury et al., 2016). Também já começaram a surgir estudos que associam a EGCG a uma melhoria nos aspetos cognitivos e comportamentais em indivíduos com SD (Ettcheto et al., 2019; Goodlett et al., 2020; Souchet et al., 2019; Vacca et al., 2016).

A EGCG, como já referido, insere-se na classe dos polifenóis, mais propriamente na complexa subclasse dos flavan-3-óis, cujos monómeros se denominam catequinas, sendo constituída por três grupos hidroxilo nas posições C3', C4' e C5', encontrando-se esterificada com um ácido gálico (GA) (Mena et al., 2019).

A EGCG é nos dias de hoje bastante estudada pelo facto de ser uma candidata promissora como terapêutica adjuvante da SD. Estes estudos referem que parece haver uma diminuição do défice cognitivo nos indivíduos portadores desta síndrome e uma melhoria de algumas funções cerebrais (Souchet et al., 2019; Vacca et al., 2016; Valenti et al., 2016).

Na SD verificou-se que a EGCG, sozinha ou em combinação com outros suplementos atua diminuindo a atividade da proteína codificada pelo gene *DYRK1A* (presente na região crítica do cromossoma 21) (Stringer et al., 2017a). Em indivíduos com SD pensa-se que a presença deste gene em triplicado esteja associada a um défice de aprendizagem (GeneCards, 2021; Guedj et al., 2009; Stringer et al., 2017a).

No entanto, entre os vários estudos realizados para comprovar os efeitos da EGCG, os resultados nem sempre são concordantes. A justificação pode ser atribuída às diversas propriedades químicas ou farmacocinéticas da EGCG, como a sua baixa biodisponibilidade, degradação química quando em solução ou ainda a biotransformação no trato digestivo antes da absorção (Goodlett et al., 2020; Vacca et al., 2016). Estes acabam por ser fatores importantes na determinação e diferenças encontradas nos resultados finais dos estudos.

### **3.1. Absorção, distribuição, metabolização e excreção da epigallocatequina-3-galato**

A administração, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) das catequinas está sujeita a diferenças interindividuais, com influência do género, idade e hábitos alimentares, mas sobretudo de polimorfismos genéticos das enzimas de fase II e da microbiota intestinal de cada indivíduo (Mena et al., 2019).

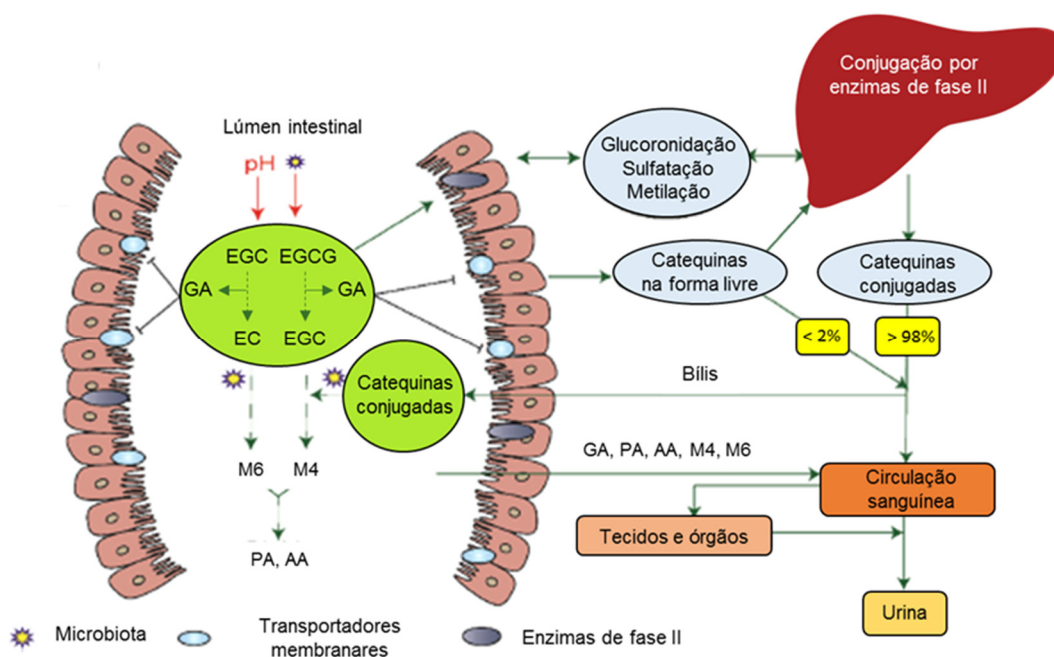
Já se verificou que uma das características da EGCG é a sua capacidade para atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), em determinadas concentrações, o que permite alcançar o sistema nervoso central (SNC) e gerar efeitos benéficos a este nível (Khalatbary & Khademi, 2020).

A absorção das catequinas é muito rápida, atingindo normalmente a concentração máxima no plasma entre 1 a 4 h (T máx) após a ingestão de alimentos ricos em flavan-3-

óis (Mena et al., 2019). No caso da ingestão de chá verde, verificou-se que o T máx da EGCG é de cerca de 2 h (Vacca et al., 2016).

Segundo alguns estudos, a biodisponibilidade da EGCG varia mediante a via de administração. Da rápida metabolização e degradação pela flora microbiana no intestino formam-se vários metabolitos que são detetados na corrente sanguínea (em concentrações baixas) e na urina por mais de 8h, apresentando estes uma maior biodisponibilidade (Mena et al., 2019; Pervin et al., 2019). A biodisponibilidade dos polifenóis do chá verde, pode, então, ser condicionada pelo ambiente enzimático no trato digestivo, por um deficiente transporte ao nível intestinal e por um metabolismo e degradação rápidos (Xing et al., 2019).

Grande parte dos flavan-3-óis não é absorvida no intestino delgado e chega ao intestino grosso onde é metabolizada pela microbiota intestinal, dando origem a metabolitos mais pequenos (Figura 4) (Xing et al., 2019).



**Figura 4.** Metabolização e excreção da EGCG. AA, ácidos aromáticos; EC, epicatequina; EGC, epigallocatequina; EGCG, epigallocatequina-3-galato; GA, ácido gálico; PA, ácidos fenólicos; M4, 5-(3',4',5'-trihidroxifenil)- $\gamma$ -valerolactona; M6, 5-(3',4'-dihidroxifenil)- $\gamma$ -valerolactona (adaptada de Xing et al., 2019).

No caso da EGCG, o seu catabolismo inicia-se normalmente por ação de esterases microbianas, com libertação do GA. Por sua vez, a EGC resultante sofre ação de bactérias intestinais. A EGC é degradada e dará origem ao metabolito M4 (5-(3',4',5'-

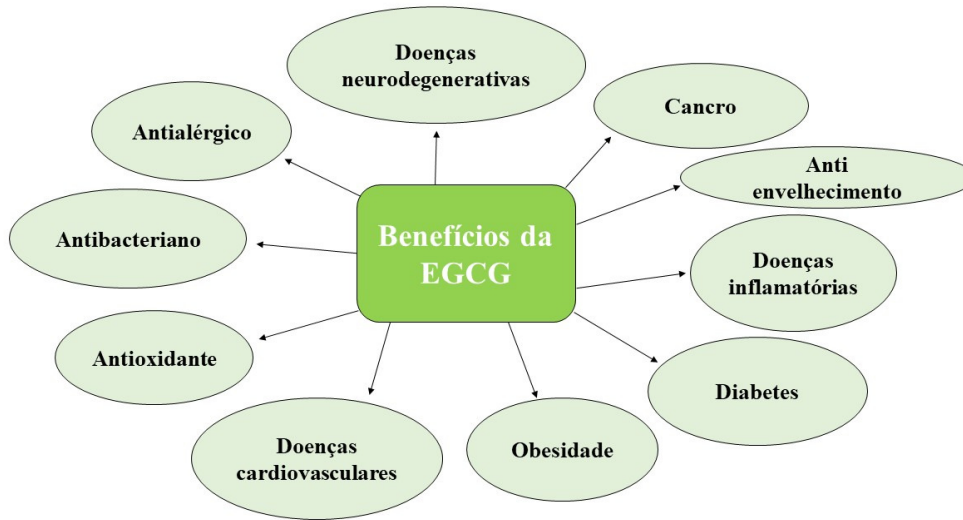
trihidroxifenil)- $\gamma$ -valerolactona) no intestino grosso. Este pode ser absorvido diretamente ou ser metabolizado, originando ácidos aromáticos (AA) e ácidos fenólicos (PA) (Mena et al., 2019; Xing et al., 2019). A EGCG pode também ser metabolizada por enzimas de fase II quer no intestino delgado quer no fígado, sofrendo processos de glucuronidação, sulfatação e metilação, formando desta forma as catequinas conjugadas. Mais de 98% das catequinas conjugadas vão diretamente para a corrente sanguínea e são eliminadas na urina, enquanto as restantes regressam ao trato gastrointestinal, excretadas pela biliar (Xing et al., 2019). No final deste processo, os metabolitos da EGCG entram na corrente sanguínea podendo, ou não, passar pelos órgãos e tecidos e são, posteriormente, eliminados pelo trato urinário. Ocorre desta forma toda a metabolização no lúmen intestinal até à fase de excreção da EGCG, que pode ser encontrada na forma livre ou conjugada (Xing et al., 2019).

Embora a maioria dos estudos de farmacocinética e biodisponibilidade dos flavan-3-óis tenha sido realizada a partir do chá, este tipo de metabolismo realizado pela microbiota intestinal já foi também observado em estudos com outras fontes alimentares, como cacau, uvas, maçã e suplementos ricos em flavan-3-óis (Mena et al., 2019).

### **3.2. Benefícios da epigallocatequina-3-galato**

O modo como a população em geral vive intensamente o seu dia-a-dia, alterando estilos de vida e, por consequência, a sua alimentação, faz com que inevitavelmente surja um aumento de doenças crónicas (Farzaei et al., 2019). Ao longo dos anos vão surgindo novas descobertas dos mais variados benefícios da EGCG para a saúde humana, tanto a nível fisiológico como patológico, devido à perceção dos seus diversos mecanismos de ação (Chu et al., 2017). Embora a indústria farmacêutica esteja cada vez mais desenvolvida, está a crescer o número de pessoas que procuram os efeitos terapêuticos das plantas medicinais, onde se inclui o chá verde (Yang et al., 2020).

Alguns estudos apontam na direção de que um composto natural como a EGCG possui inúmeras propriedades e aplicações terapêuticas (Figura 5), tais como: antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, anticancerígena, antienvelhecimento e antialérgica. Além disso, também atua na prevenção de doenças crônicas, como a *diabetes mellitus*, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas e obesidade (Afzal et al., 2015; Stringer et al., 2017a; Yang et al., 2020).



**Figura 5.** Benefícios da EGCG (adaptada de Singh et al., 2016).

Alguns fatores fisiológicos, como aumento de adipócitos no corpo humano, diminuição da ação antioxidante, alterações hormonais e do metabolismo são desencadeados pelo envelhecimento, sendo a EGCG um composto natural capaz de retardar esse mesmo envelhecimento (Farzaei et al., 2019). A EGCG exerce estes seus benefícios através da regulação de fatores de transcrição, de vias de transdução, da metilação de DNA, da função mitocondrial e da autofagia, interagindo com fosfolípidos e proteínas da membrana plasmática (Kim et al., 2014).

Os benefícios que serão destacados no âmbito deste trabalho são os que têm que ver com as atividades antioxidante, neuroprotetora e anti-inflamatória da EGCG, e que têm impacto no declínio cognitivo da SD.

#### **i. Atividade antioxidante da epigallocatequina-3-galato**

A EGCG, para além de outras atividades já mencionadas, tem uma atividade antioxidante capaz de eliminar os radicais livres que se formam em muitas doenças, provenientes de espécies reativas de oxigénio (ROS). O stress oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de ROS e as defesas antioxidantes do organismo,

podendo ser muito prejudicial para a saúde humana (Rodrigo & Gil-Becerra, 2014; Sharma, 2014). De facto, sabe-se que os radicais livres também estão associados a um envelhecimento precoce, característico dos indivíduos portadores de SD (Vatner et al., 2020). A estrutura química da EGCG pode estar na base do seu poder antioxidante, uma vez que os anéis aromáticos captam os radicais livres e eletrões, impedindo a formação de ROS e, conseqüentemente, diminuindo os danos causados pelo stress oxidativo nas células (Chu et al., 2017). Além disso, a EGCG também tem capacidade para induzir a produção de enzimas antioxidantes e inibir a atividade de enzimas pró-oxidantes (Sharma, 2014; Zanwar et al., 2014).

## **ii. Atividade neuroprotetora da epigallocatequina-3-galato**

A ação neuroprotetora da EGCG tem como principal função evitar a ocorrência de processos de neurodegeneração, impedindo, por exemplo, a morte celular por apoptose, através da redução da expressão de genes pró-apoptóticos, sendo que as suas atividades antioxidantes e anti-inflamatórias também contribuem para a neuroproteção (Khalatbary & Khademi, 2020; Sharma, 2014). A EGCG além de aumentar a viabilidade celular, diminuir a produção de ROS e a expressão de marcadores de stress de retículo endoplasmático, melhora a função mitocondrial, atenua a inflamação cerebral e os danos neuronais. Deste modo, retarda o início de certas doenças neurológicas, prolongando as capacidades cognitivas e de aprendizagem, o que contribui para uma melhor qualidade de vida (Singh et al., 2016). Além disso, existem estudos que comprovam a eficácia da EGCG em reparar neurónios danificados, promovendo o desenvolvimento de neurites no cérebro, o que previne a disfunção cognitiva (Pervin et al., 2019; Singh et al., 2016; Zhang et al., 2021).

## **iii. Atividade anti-inflamatória da epigallocatequina-3-galato**

A EGCG apresenta também atividade anti-inflamatória. A sua administração por via oral *in vivo*, dependendo da dose administrada, diminui significativamente a inflamação na fibrose pulmonar e inibe mediadores pró-inflamatórios, como as mieloperoxidasas (Singh et al., 2016) ou a enzima COX-2 (através da eliminação de ROS), promovendo a diminuição da transcrição de fatores inflamatórios (Chu et al., 2017). Já se verificou também que pode ser uma opção terapêutica útil na doença inflamatória intestinal, através da diminuição de enzimas e citocinas inflamatórias, do reforço das defesas antioxidantes

e da supressão de vias inflamatórias (e mecanismos de sinalização celular a elas associados) (Farzaei et al., 2015).

A EGCG é capaz de exercer a sua atividade anti-inflamatória através da regulação da expressão génica e da transcrição (Chu et al., 2017). Um exemplo disto é a sua ação inibitória na atividade do fator de transcrição NF- $\kappa$ B, que está associado a respostas pró-inflamatórias do organismo (Lakshmi et al., 2020). De facto, a supressão da via do NF- $\kappa$ B a nível do endotélio, contribui para o efeito anti-inflamatório da EGCG e potencial terapêutico nas doenças cardiovasculares (Reddy et al., 2020). Recentemente referem-se os efeitos anti-inflamatórios da EGCG que parecem ser benéficos no combate à inflamação exacerbada observada em alguns casos da doença provocada pelo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2), a COVID-19 (Menegazzi et al., 2020).

Não obstante as propriedades terapêuticas conhecidas, devido à baixa biodisponibilidade da EGCG, estas podem não ser sempre observadas. Assim, o desenvolvimento de vários tipos de nanopartículas à base de proteínas, lípidos, polímeros, hidratos de carbono ou metais, como transportadoras da EGCG, pode contribuir para a estabilidade, a libertação e absorção da mesma no trato gastrointestinal (Yang et al., 2020). Apesar dos benefícios, em estudos com modelos animais verificou-se que em doses mais altas a EGCG pode provocar toxicidade, através da indução de fibrose cardíaca (500 e 1000 mg/kg/dia) e, a nível hepático ( $\geq 10$  micromolar,  $\mu$ M), aumentando a produção de ROS e causando danos mitocondriais (Cai et al., 2015; Kucera et al., 2015).

### **3.3. Importância da epigallocatequina-3-galato nas doenças neurodegenerativas**

Nos últimos anos, a investigação científica tem-se focado muito no estudo e na procura de novas terapêuticas para os distúrbios cognitivos, pois as opções farmacológicas mais usadas nestes casos nem sempre funcionam. Devido ao aumento da esperança média de vida e ao estilo de vida moderno, espera-se que ocorra um aumento drástico da prevalência destes mesmos distúrbios num futuro próximo, pelo que é necessário que os investigadores continuem a procurar novas estratégias terapêuticas, sendo que o interesse nas atividades farmacológicas das catequinas presentes no chá verde, como a EGCG, tem vindo a aumentar em todo o mundo (Farzaei et al., 2019). Os benefícios dos efeitos neuroprotetores da EGCG não se apresentam apenas na SD, ocorrendo também em doenças como a Doença de Alzheimer (DA) e a Doença de Parkinson (DP) (Pervin et al.,

2018; Vacca et al., 2016), contribuindo para esses efeitos, como foi dito anteriormente, a capacidade da EGCG e dos seus metabolitos para atravessar a BHE (Pervin et al., 2019).

Doenças neurodegenerativas, como a DA e a DP, podem desenvolver-se devido a características hereditárias ou fatores ambientais, não havendo, ainda, uma causa perfeitamente definida. São caracterizadas pela perda gradual e progressiva de células neuronais, o que, por sua vez, conduz à disfunção do SNC, com perdas de memória e aprendizagem, já que tanto a parte periférica do sistema nervoso como a central são afetadas (Chowdhury et al., 2016). O stress oxidativo e a inflamação são também fatores cruciais no desenvolvimento da DA e DP (Khalatbary & Khademi, 2020), processos nos quais, como já referido, a EGCG é capaz de atuar.

### **i. Doença de Alzheimer**

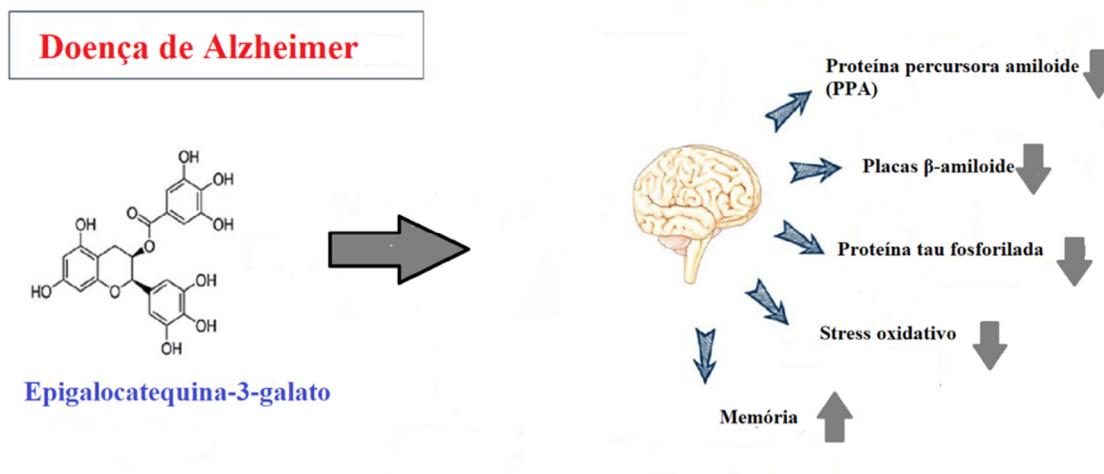
A DA é a patologia neurodegenerativa mais prevalente no mundo e é a principal causa neuropatológica do declínio cognitivo e da demência (*Alzheimer's Association*, 2019; Farzaei et al., 2019). Estima-se que, em 2050, 88 milhões de pessoas venham a sofrer desta doença nos Estados Unidos da América (*Alzheimer's Association*, 2019). A DA é caracterizada por um distúrbio neurodegenerativo progressivo causado por alterações proteicas que levam à formação de fibrilas amiloides que se acumulam, resultando na agregação de placas  $\beta$ -amiloides ( $\beta$ A) no cérebro, e por hiperfosforilação de proteínas tau, estando estas associadas à ocorrência de neuroinflamação (Birch et al., 2014; Polito et al., 2018). Deste modo, consideram-se a proteína tau hiperfosforilada e as placas  $\beta$ -amiloides como dois biomarcadores importantes para a deteção desta doença (Singh et al., 2016). Sabe-se também que uma acumulação de ferro a nível cerebral pode estar associada à fisiopatologia da DA (Derry et al., 2020; Spotorno et al., 2020; Yan & Zhang, 2020).

No que diz respeito à hereditariedade desta doença, verificou-se que em famílias que já têm histórico de DA, ocorrem mutações genéticas nos cromossomas 1, 14 e 21, nomeadamente nos genes da presenilina 2, presenilina 1 (duas proteínas importantes na formação das placas  $\beta$ A) e da proteína precursora amiloide (PPA), respetivamente; estas últimas estão associadas a um maior risco de desenvolvimento desta doença (Bekris et al., 2010).

A medicação para a DA é limitada e, por isso, há uma grande necessidade de se desenvolver novos fármacos para esta doença que continua, atualmente, sem perspectivas de cura. Têm sido desenvolvidos alguns estudos em animais para se perceber até que

ponto os efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e neuroprotetores da EGCG podem ter interesse terapêutico nesta patologia neurodegenerativa (Casella et al., 2017; Xicota et al., 2017; Zhang et al., 2020). A autofagia é o processo celular responsável pela eliminação de moléculas ou organelos danificados, tendo-se verificado que a sua atividade se encontra diminuída na DA, o que contribui para a acumulação das placas  $\beta$ A e das proteínas tau hiperfosforiladas (Gruendler et al., 2020). Estudos mostraram que a EGCG parece ser capaz de exercer a sua ação anti-amiloidogénica através da indução de autofagia (Chiu et al., 2020; Gruendler et al., 2020; Prasanth et al., 2019).

Vários estudos indicam também que, em determinadas doses (2-100 mg/kg/dia) e diferentes vias de administração, a EGCG modula a clivagem da PPA e reduz a amiloidose cerebral, diminui consideravelmente a expressão de péptidos  $\beta$ A e da PPA no hipocampo, em modelos animais, o que reduz a deposição de placas  $\beta$ A no cérebro (Ettcheto et al., 2019; Ferreira et al., 2012; Khalatbary & Khademi, 2020; Pomier et al., 2020). Além disso, inibe a agregação da proteína tau hiperfosforilada, prevenindo a neurotoxicidade que é induzida pela mesma nas células neuronais, algo que pode estar relacionado com a sua ação queladora de ferro (Singh et al., 2016). Na figura 6 encontram-se resumidos alguns dos efeitos da EGCG na DA.



**Figura 6.** Ação da EGCG na doença de Alzheimer (adaptada de Ettcheto et al., 2019).

## ii. Doença de Parkinson

A DP caracteriza-se pela ocorrência de sintomas como tremores, movimentos lentos, instabilidade postural, rigidez, e ainda, défices psiquiátricos e cognitivos, sendo causada pela modificação estrutural e agregação da proteína  $\alpha$ -sinucleína, por danos e perda progressiva de neurónios dopaminérgicos a nível da substância nigra e por stress oxidativo proveniente de disfunção mitocondrial (Singh et al., 2016). Trata-se da segunda doença neurodegenerativa mais prevalente, afetando cerca de 5,2 milhões de pessoas em todo o mundo (Walter & Odin, 2015).

A acumulação de  $\alpha$ -sinucleína e outras estruturas alteradas origina a formação de corpos de Lewy, que podem conduzir à libertação de radicais livres, ao desenvolvimento excessivo de espécies de óxido nítrico, à ativação de apoptose, à inflamação desencadeada por células da microglia e podem, ainda, interferir nas vias de degradação de proteínas (Pervin et al., 2018). Os mecanismos e as causas da DP ainda não são totalmente conhecidos, contudo a investigação na última década tem-se centrado no envolvimento da inflamação crónica, da acumulação de ferro e do stress oxidativo, recorrendo muito à utilização de modelos animais para estudar a fisiopatologia desta doença e o potencial de determinadas terapêuticas (Singh et al., 2016; Xu et al., 2017).

Dependendo da dose utilizada, a EGCG demonstrou ter um efeito inibitório nos transportadores pré-sinápticos de dopamina nas células dopaminérgicas, diminuindo a internalização deste neurotransmissor e aumentando os seus níveis na fenda pré-sináptica, exercendo, assim, efeito neuroprotetor na DP (Li et al., 2006). Além disso, as suas propriedades enquanto eliminadora de radicais livres, queladora de ferro e anti-inflamatória podem também contribuir para este efeito (Xu et al., 2017). Já se verificou também que a EGCG é capaz de inibir a agregação de  $\alpha$ -sinucleína (Liu et al., 2018), algo que pode estar relacionado com a sua capacidade para quelar o ferro em excesso no cérebro (Zhao et al., 2017).

Pode concluir-se que existem algumas semelhanças entre a DP e a DA no que diz respeito à diminuição da função mitocondrial, à existência de stress oxidativo, à neuroinflamação e à elevada quantidade de ferro acumulada no cérebro (Singh et al., 2016), pelo que a EGCG pode ter potencial na prevenção ou até mesmo na melhoria de alguns sintomas relacionados com estas doenças neurodegenerativas (Khalatbary & Khademi, 2020; Singh et al., 2020).

#### **IV. Síndrome de Down**

Historicamente, a trissomia 21, ou Síndrome de Down (SD), manteve-se desconhecida até meados do século XX, no entanto já existiam evidências da sua ocorrência na comunidade no século 500 a.C. Foi em 1866, que o médico inglês John Langdon Down descreveu as características físicas da SD. Já a descoberta do cromossoma 21 extra e a sua associação ao atraso mental (hoje em dia designado por déficit cognitivo) observado na SD, ocorreu apenas em 1959, pelo médico francês Jérôme Lejeune (Megarbane et al., 2009). Mais tarde, no início de 1970, de acordo com Campos (2005), foram feitos vários estudos considerados fundamentais acerca do desenvolvimento da SD em crianças e adultos, visto que crianças portadoras desta síndrome tinham um desenvolvimento semelhante às crianças sem síndrome, embora a um ritmo mais lento (Campos, 2005). Na tabela 3 encontra-se resumida a evolução histórica da SD ao longo do tempo.

A partir da meia idade estes indivíduos têm uma maior predisposição para o envelhecimento precoce e, conseqüentemente, o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como a DA, muitas vezes relacionadas com danos mitocondriais e défices energéticos (Valenti et al., 2018).

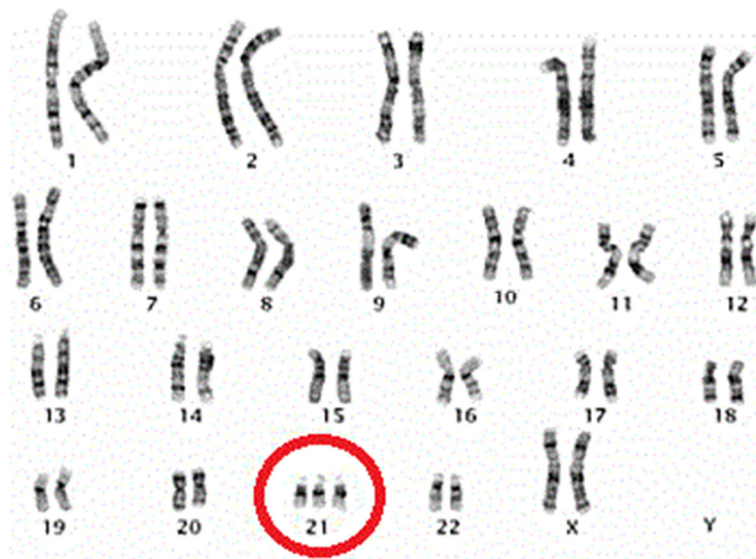
**Tabela 3.** Resumo das principais datas na história da SD (adaptada de Megarbane et al., 2009).

DATAS	HISTÓRIA
500 anos a.C.	Primeira representação da SD em esculturas
1838	Esquirol faz a primeira descrição fenotípica de indivíduos com SD
1846	Séguin determinou e publicou um tratado sobre “a educação dos idiotas” com trissomia 21
1866	John Langdon Down descreve o fenótipo de crianças com SD
1932	Waardenburg e Davenport suspeitam de que a SD pode estar relacionada com uma anomalia cromossômica
1959	Jérôme Lejeune et al. demonstram que a SD resulta de um cromossoma 21 extra
1961	Geneticistas asiáticos pretendem acabar com o termo “mongolismo” e substituí-lo por SD ou “trissomia 21”
1965	O termo SD foi reconhecido oficialmente pela OMS, sendo o termo “mongoloide” ainda usado ( <i>Down’s Syndrome Association</i> , 2021)
1997	Encontro científico “Cold Spring Harbor” define a região crítica da SD como a região com maior número de características associadas à SD
2000	Hattori et al. descobrem a sequência de DNA do cromossoma 21

#### 4.1. Etiologia

A SD é uma condição genética, em que ocorre uma triplicação do cromossoma 21 (Figura 7), sendo esta alteração genética o principal fator associado à deficiência intelectual característica (Stagni et al., 2017). Estima-se que em 1 em cada 750-800 recém-nascidos possuam SD (Bull, 2020; Vacca et al., 2019), porém este número pode variar consoante as populações (Akhtar & Bokhari, 2021). Em média, em Portugal, no ano de 2016, nasceram 57 bebés com SD, por 100 mil nados vivos (*World Health Organization Regional Office for Europe*, 2021).

Sabe-se que o aumento da idade materna está correlacionado com a maior probabilidade de a criança ser portadora de SD. Porém, e aparentemente contraditório, 80% destes nascimentos ocorrem em mulheres com menos de 35 anos, justificando-se o facto pela taxa de fertilidade ser superior nas mulheres mais jovens (*National Down Syndrome Society*, 2021).



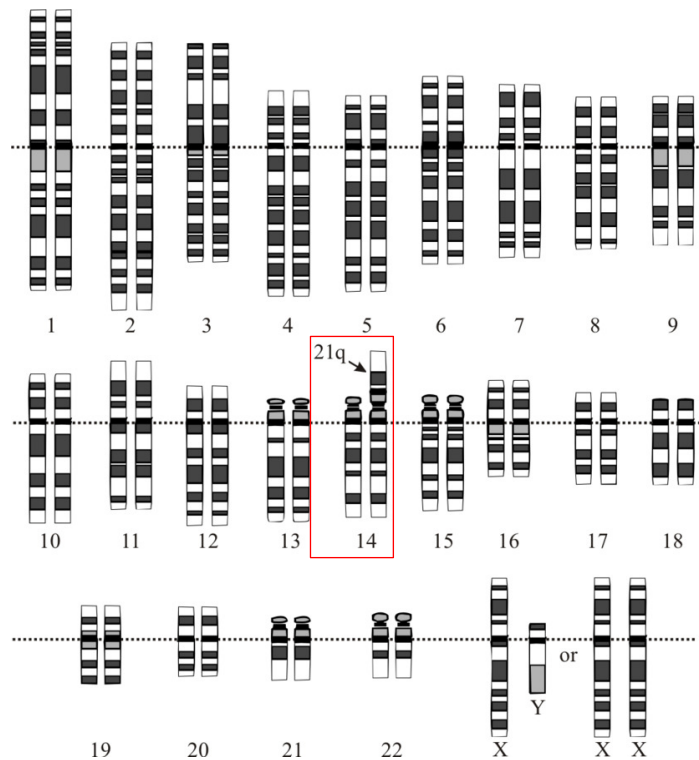
**Figura 7.** Cariótipo de um indivíduo do sexo feminino portador de SD (adaptada de *National Down Syndrome Congress*, 2020).

Esta síndrome é caracterizada por um erro que pode ocorrer na distribuição dos cromossomas pelas células aquando da divisão meiótica dos gâmetas ou da divisão celular do embrião. O cromossoma extra presente no cariótipo tem como consequência uma sobreexpressão do material genético, conduzindo, deste modo, a distúrbios funcionais e estruturais no SNC, alterações do sistema digestivo e do metabolismo, défices nutricionais, problemas cardiovasculares, disfunção do sistema músculo-esquelético,

diminuição da resposta imunológica, disrupção endócrina e deficiência intelectual (Bull, 2020; Mazurek & Wyka, 2015).

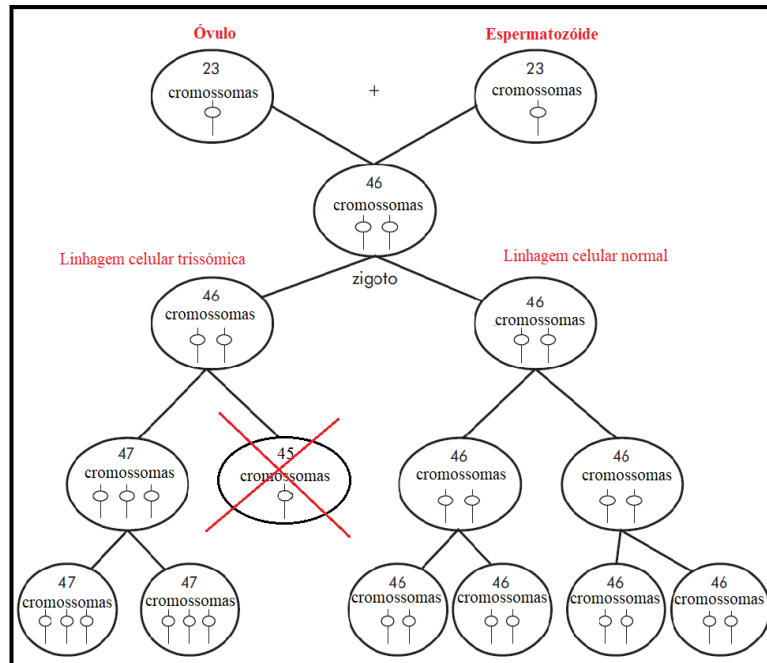
As características mais marcantes no fenótipo da SD são as alterações craniofaciais, os problemas cardíacos congênitos e o atraso no desenvolvimento cerebral (Kazemi et al., 2016). Além de estarem sujeitos a um envelhecimento precoce, os indivíduos adultos com SD desenvolvem muitas vezes neuropatologias que culminam em demência. Uma grande parte dos indivíduos apresenta características típicas da DA, como a deposição de placas  $\beta$ A e a acumulação de proteínas tau hiperfosforiladas no cérebro, o que pode estar associado à sobreexpressão do gene *PPA* localizado no cromossoma 21 (Head et al., 2016; Zis & Strydom, 2018). Por este motivo a SD é considerada por alguns autores um distúrbio neurodegenerativo (Vacca et al., 2019).

A alteração genética na SD pode acontecer por três modos distintos, todos eles caracterizados por anomalias cromossômicas: trissomia 21 simples, trissomia Robertsoniana e mosaicismo (Mazurek & Wyka, 2015). A trissomia 21 simples é a forma mais comum, ocorrendo em cerca de 90-95% dos casos. Pode ter origem num erro na disjunção dos cromossomas durante as divisões celulares responsáveis pela formação dos gametas conduzindo à existência de um cromossoma 21 extra nestas células (Kozma, 2007; Mazurek & Wyka, 2015). A SD Robertsoniana (Figura 8) corresponde a 5-6% dos casos, possuindo as mesmas características fenotípicas da trissomia 21 do tipo simples. A translocação robertsoniana resulta na formação de um cromossoma híbrido, no qual há transferência de um fragmento do cromossoma 21 para outro cromossoma. Na SD pode ocorrer com os cromossomas 14 ou 22, embora seja mais comum com o 14, como se observa na figura 8. Sabe-se também que cerca de 25% dos casos de translocação podem ocorrer de forma espontânea durante a fertilização, enquanto nos restantes 75% o cromossoma híbrido é herança de um dos progenitores. Neste caso, um dos progenitores possui 45 cromossomas em vez de 46 na sua constituição, sendo portador da translocação equilibrada – cromossoma híbrido, mas não é portador da SD, pois não possui nem ganho nem perda de material genético. Desta forma, é importante saber se os progenitores são ou não portadores desta translocação caso o seu bebé tenha nascido com SD, pois o risco torna-se muito maior em futuras gestações (Bull, 2011; Kozma, 2007; Mazurek & Wyka, 2015).



**Figura 8.** Cariótipo de um indivíduo com SD por translocação entre o cromossoma 21 extra e o cromossoma 14 (adaptada de *National Human Genome Research Institute - Modified from [(Human Genome Project)], 2013*).

A alteração genética mais rara da SD é conhecida como mosaïcismo, surgindo em 2-3% das pessoas com trissomia 21. O mosaïcismo corresponde a um tipo diferente de alteração genética em relação aos mencionados anteriormente, pois apenas algumas células do embrião que se está a desenvolver apresentam na sua constituição o cromossoma 21 extra, isto é, nem todas as células do indivíduo irão apresentar esse cromossoma a mais, porque a distribuição anormal dos cromossomas só se dá já depois da fecundação. À partida, os portadores desta alteração têm uma forma mais suave de SD, isto é, o fenótipo típico da SD não será tão marcado e a nível intelectual estes indivíduos poderão estar mais capacitados. Assim, o zigoto forma-se normalmente, e em algum momento das divisões subsequentes ocorre uma divisão disfuncional dos cromossomas que dá origem a linhagens celulares trissómicas e outras normais – tipo mosaico (Figura 9) (Bull, 2011; Kozma, 2007; Mazurek & Wyka, 2015).



**Figura 9.** Representação esquemática do mosaicismos (adaptada de Kozma, 2007).

#### 4.2. Diferentes formas de diagnóstico

Alguns dos métodos mais utilizados para a detecção da SD durante a gestação são a ecografia baseada em marcadores como um osso nasal pequeno ou inexistente, ventrículos cardíacos grandes e aumento da espessura na nuca (realizada entre as 14 e 24 semanas de gravidez) (Akhtar & Bokhari, 2021), assim como a amniocentese e a biópsia das vilosidades coriônicas, sendo estes últimos necessários para o diagnóstico definitivo da SD, embora sejam invasivos e estejam associados a um risco de aborto entre 0,5% e 1% (Akhtar & Bokhari, 2021; Bull, 2020). Ao longo da gestação, assim como depois do nascimento da criança, podem ser usados vários métodos para a confirmação da trissomia 21 (Akhtar & Bokhari, 2021; Shen, 2019), sendo o mais comum a análise do cariótipo. Existem outros métodos, tais como a hibridização *in situ* de fluorescência (FISH), ou a reação em cadeia da polimerase por fluorescência quantitativa (QF-PCR), cujos resultados podem ser obtidos mais rapidamente (Akhtar & Bokhari, 2021; Bull, 2020; Shen, 2019).

À medida que a ciência avança, tem-se tentado cada vez mais desenvolver técnicas não invasivas para o diagnóstico da SD, como a análise de DNA livre fetal presente no sangue materno, uma técnica com elevada especificidade (99,7%), normalmente utilizada após se detectarem alterações congênicas por ecografias (Bull, 2020; Mesoraca et al., 2020).

### 4.3. Características fenotípicas e clínicas

As diversas alterações no desenvolvimento de crianças portadoras de SD, dentro das quais se destacam as que ocorrem no sistema nervoso (défice cognitivo) e cardíaco, são causadas pela existência de material genético adicional (cromossoma 21 extra) que promove a sobreexpressão de determinadas proteínas (Antonarakis, 2017). As pessoas com SD possuem determinadas características morfológicas típicas, porém podem nem todas se manifestar (*National Down Syndrome Congress*, 2020). As características mais comuns e perceptíveis encontram-se resumidas na tabela 4.

**Tabela 4.** Principais características fenotípicas da SD (adaptada de Mazurek & Wyka, 2015).

<b>Parte do corpo</b>	<b>Características fenotípicas</b>
Cabeça	Pequena, braquicefalia (diâmetro fronto-occipital reduzido), região occipital achatada
Face	Redonda, levemente mais larga e achatada
Olhos	Olhos pequenos e oblíquos, fissuras palpebrais pequenas e inclinadas
Nariz	Pequeno, achatado e curto
Boca	Pequena, língua grande, protusa e fissurada, lábios grossos e rachados
Palato	Alto, arqueado e estreito
Orelhas	Pequenas, irregulares e com implantação baixa
Pescoço	Curto e largo
Membros	Mãos e pés pequenos e largos; membros superiores e inferiores curtos em relação ao resto do corpo; hipotonia muscular; apenas uma prega na palma da mão; dedo mindinho curvado na direção do polegar (clinodactilia); distância entre o primeiro e o segundo dedo do pé (“abertura da sandália”)
Pele	Sensível e seca

Ao longo da vida, as pessoas com SD podem desenvolver algumas condições médicas específicas (Antonarakis et al., 2020; Bull, 2020; Valentini et al., 2021). Por isso, são cada vez mais os estudos que investigam formas de prevenir estas doenças causadas pela desregulação do genoma, com o intuito de garantir uma melhor qualidade de vida aos indivíduos portadores desta síndrome (Antonarakis, 2017; Bull, 2020; Capone, 2020).

O fenótipo destes indivíduos, ao contrário do das pessoas sem qualquer distúrbio genético associado, tende a envolver manifestações clínicas em vários sistemas de órgãos, em especial nos sistemas cardiovascular, músculo-esquelético e neurológico (Akhtar & Bokhari, 2021; Antonarakis et al., 2020). Sabe-se que, comparativamente com crianças da população em geral, as crianças portadoras de SD têm maior predisposição para desenvolverem leucemias, correspondendo a um risco 10 vezes superior (Akhtar & Bokhari, 2021). Cerca de 10% dos recém-nascidos com SD são afetados por uma alteração hematológica designada por distúrbio mieloproliferativo transitório, sendo que na grande maioria dos casos esta acaba por reverter de uma forma natural ao longo do tempo. Porém, esta condição aumenta o risco de leucemia em 20 a 30%, sendo as leucemias megacarioblástica aguda e a linfoblástica aguda as formas mais comuns (Antonarakis, 2017; Bull, 2020; Mateos et al., 2015). Por outro lado, a incidência de cancro em indivíduos com SD parece ser menor em relação à população em geral (Antonarakis, 2017; Antonarakis et al., 2020; Satgé & Seidel, 2018).

Também é importante ter em consideração outras doenças e condições médicas mais prevalentes na SD, como apneia obstrutiva do sono, epilepsia, perda auditiva, problemas oftalmológicos, dermatológicos, gastrointestinais, respiratórios, urinários, hematológicos e endócrinos (diabetes *mellitus* tipo 1, hipotireoidismo), complicações ortopédicas, infeções recorrentes, ansiedade e desenvolvimento precoce de DA (Akhtar & Bokhari, 2021; Antonarakis et al., 2020; Bull, 2020; Coppedè, 2016; Gaspar, 2013; Moreau et al., 2021).

A doença neurológica é o aspeto mais relevante no âmbito deste trabalho. Um encéfalo pequeno é uma das características presentes na SD, algo que se destaca mais em algumas partes deste órgão, como o cerebelo, o hipocampo e o córtex cerebral frontal. Supõe-se que é a partir do começo do desenvolvimento do cérebro, na fase embrionária e fetal, que a neurogênese cerebral é afetada. Desta forma, o cérebro de uma pessoa com SD possuirá um menor número de neurónios, sendo este presumivelmente um fator crucial no desenvolvimento de disfunções cognitivas e comportamentais nestes indivíduos (Stagni et al., 2017).

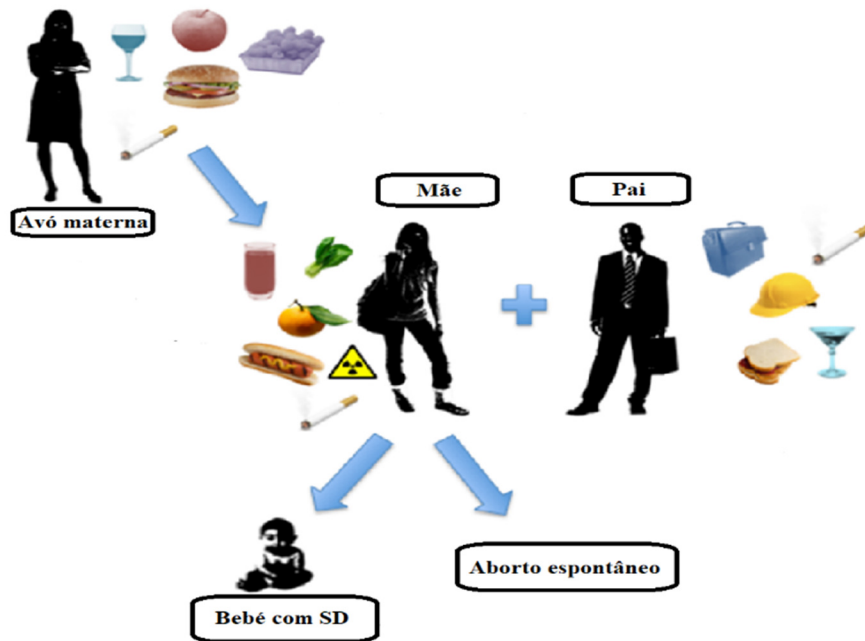
A DA em indivíduos portadores de trissomia 21 tende a desenvolver-se precocemente, sendo que a partir dos 50 anos de idade o risco de desenvolvimento desta doença será superior a 70% (Asim et al., 2015). Isto poderá dever-se em parte ao facto do gene que codifica a proteína PPA encontrar-se no cromossoma 21, levando a sua sobreexpressão a uma maior frequência de casos de DA em portadores de trissomia 21. Tal pode também

estar relacionado com a sobreexpressão de outros genes envolvidos na regulação da PPA (Akhtar & Bokhari, 2021; Antonarakis, 2017; Asim et al., 2015).

#### **4.4. Fatores de risco associados**

A idade materna avançada, como já referido, é o fator mais relevante para o nascimento de um bebê com trissomia 21, assim como para outras aneuploidias, estando relacionada com uma maior probabilidade de ocorrência de erros no processo de meiose, quer na primeira quer na segunda divisão. No entanto, existem outros fatores de risco associados (Coppedè, 2016). Existem alguns fatores ambientais que parecem contribuir para a ocorrência de erros genéticos, embora estes não sejam fáceis de identificar devido a dificuldades em estabelecer o tipo, a dose e o tempo de exposição (Antonarakis et al., 2020).

Apesar de ainda haver muitas dúvidas acerca dos fatores de risco para a SD, acredita-se que para além do conjunto de modificações epigenéticas provocadas pelo ambiente, os fatores genéticos que poderão abranger três gerações distintas (a avó materna, a mãe e o próprio bebê em desenvolvimento) têm uma grande importância, como está retratado na figura 10. Por sua vez, o estilo de vida, a dieta, a idade, genótipo e exposição ambiental da mãe podem ser determinantes nos erros que acontecem na peri-conceção na vida adulta, sendo que a carência de ácido fólico na gravidez aumenta o risco de erros na divisão celular, principalmente quando a idade materna é avançada. Um outro fator genético que ainda é bastante controverso é o efeito da idade paterna no que diz respeito às anomalias cromossômicas em espermatozoides humanos, embora se saiba que erros na meiose paterna estarão na origem de menos de 10% dos casos de SD. Tal como acontece com a mãe e a avó, também fatores como a dieta, estilo de vida, genótipo e exposição ambiental/ocupacional a determinados agentes podem ter um papel na ocorrência desses erros (Coppedè, 2016).



**Figura 10.** Fatores de risco para o nascimento de uma criança com SD (adaptada de Coppedè, 2016).

Outro aspeto relevante que também pode aumentar o risco de nascimento de um bebé com SD (pela sua não deteção) é o peso da mãe durante a gestação, uma vez que a precisão dos testes de triagem para uma eventual deteção de marcadores séricos associados à trissomia 21 é menor se o peso da mãe for excessivo, devendo ser feito um ajuste para o peso de forma a melhorar a fiabilidade da testagem materna (Huang et al., 2013).

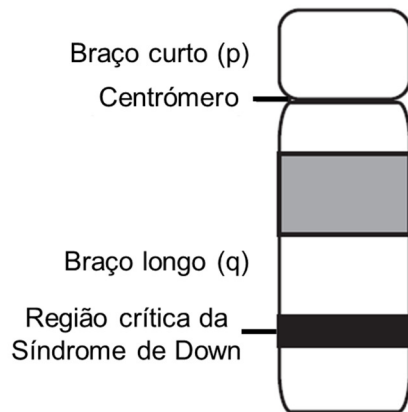
Assim, de uma forma geral, quando se fala de fatores de risco para o nascimento de uma criança com SD deve ter-se em conta as diferentes gerações que podem estar envolvidas, assim como todos os fatores externos aos quais as mesmas estiveram expostas ao longo da vida, não devendo os estudos focar-se apenas nos fatores maternos.

#### 4.5. Cromossoma 21

Como já referido, a SD é um distúrbio genético causado pela presença de um cromossoma extra no par 21. Ora, sendo esta síndrome a causa genética mais frequente de atraso cognitivo no mundo, houve uma necessidade acrescida de se perceber mais acerca deste cromossoma, daí ter sido um dos primeiros cromossomas a ser estudado e investigado (Antonarakis, 2017).

O cromossoma 21 é o mais pequeno, contém cerca de 48 milhões de nucleótidos, representando 1 a 1,5% do genoma humano (Shen, 2019). Estima-se, atualmente, que 233 dos seus genes codificam proteínas, 423 genes não codificam proteínas e 188 são

pseudogenes, possuindo também uma grande percentagem de elementos repetitivos (Antonarakis et al., 2020). Este cromossoma (Figura 11) é caracterizado por um braço curto (p) e um braço longo (q) cujo centrómero faz a divisão entre os dois. É no braço longo, mais precisamente na sua porção inferior, que se situa a região crítica da SD, um pequeno segmento que foi totalmente sequenciado no ano 2000 por meio de um esforço internacional – Projeto do Genoma Humano (Hattori et al., 2000).



**Figura 11.** Representação do cromossoma 21 (adaptada de Kozma, 2007).

Considera-se que a região crítica da SD contribui para este distúrbio genético por triplicação dos genes nela localizados. O material genético extra presente neste cromossoma pode conduzir ao desenvolvimento incompleto de vários órgãos e sistemas fisiológicos, tal como o coração que, em alguns indivíduos, não apresenta o seu septo devidamente fechado (Kozma, 2007).

Volvidas já duas décadas desde o sequenciamento do genoma do cromossoma 21 (Hattori et al., 2000), tem-se verificado uma evolução no que diz respeito ao estudo dos genes codificadores de proteínas presentes neste cromossoma, do conteúdo de outros elementos genómicos funcionais e da variabilidade individual de sequências nele existentes. Têm também sido feitos avanços no estudo do impacto fenotípico da sobreexpressão dos genes, assim como na investigação de variações genéticas para certos fenótipos, como é o caso dos defeitos no sistema cardiovascular, de desenvolvimento de DA precoce e de leucemias (Antonarakis, 2017).

Deste modo, é essencial continuar a analisar a etiologia genética da SD, visto que ainda é necessário muita investigação para se esclarecer o porquê de os indivíduos com esta síndrome possuírem uma maior suscetibilidade às múltiplas condições médicas já mencionadas e, assim, tentar encontrar novas abordagens terapêuticas capazes de atenuar os desequilíbrios fisiológicos a ela associados (Rondal, 2021).

#### 4.6. Capacidade intelectual

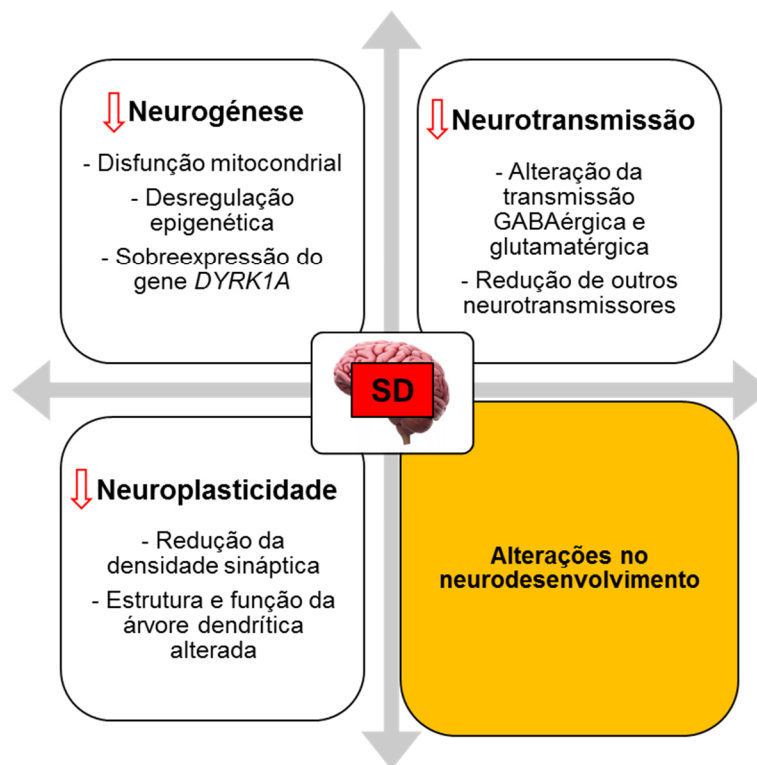
O grau de déficit cognitivo e de aprendizagem em indivíduos com SD pode variar, sendo que estudos comportamentais, quer em modelos animais quer em crianças com SD, permitiram perceber que ter um ambiente familiar e educativo, estimulante e saudável promove melhorias no desenvolvimento cognitivo (Capone, 2020; Vacca et al., 2019). Sabe-se que o quociente de inteligência (QI), um método comum usado para avaliar a capacidade de raciocínio e pensamento, vai diminuindo com a idade em pessoas com SD, variando entre 45 e 71 em crianças com esta síndrome (Kozma, 2007; Stagni et al., 2017).

Cerca de 95% da população em geral tem um QI compreendido entre 70 e 130, sendo que apenas cerca de 2,5% possui um QI acima de 130. Na mesma proporção existem os indivíduos com QI abaixo de 70, sendo estes considerados portadores de deficiência mental, onde se incluem os casos de SD (Kozma, 2007).

Há anos atrás pensava-se que as alterações cerebrais que ocorrem nos indivíduos com SD seriam irreversíveis e impossíveis de contornar, contudo nos últimos tempos este pensamento tem vindo a alterar-se. Existem vários estudos pré-clínicos feitos em ratos com SD que reportam uma melhoria e até mesmo a recuperação das alterações no neurodesenvolvimento que se observam nesta síndrome (Antonarakis et al., 2020; Baburamani et al., 2019; Bartesaghi et al., 2011; Bianchi et al., 2010; Costa & Scott-McKean, 2013; Gardiner, 2015; Rueda et al., 2012).

O cérebro é dos órgãos mais vulneráveis na SD, sendo um alvo crítico do desequilíbrio no número de genes que existem com interações gene-gene e proteína-proteína. Estas interações anormais comprometem a função normal do cérebro conduzindo ao surgimento de deficiências através de vários processos neurobiológicos, como alterações na neurogênese, no crescimento das dendrites, na neurotransmissão e na neuroplasticidade (Capone, 2020). A disfunção mitocondrial, o stress oxidativo e a neuroinflamação são também fatores que poderão contribuir para os défices no neurodesenvolvimento e para as alterações que ocorrem no SNC na SD. A neurogênese é um processo que se inicia durante o desenvolvimento fetal, no qual as células estaminais proliferam e diferenciam-se em neurónios, mas que continua a ocorrer ao longo da vida adulta ao nível do hipocampo como um mecanismo adaptativo. Pensa-se que a diminuição do processo de neurogênese pode ser um dos fatores que está na origem de alterações no neurodesenvolvimento que conduzem à deficiência cognitiva característica da SD (Li et al., 2019; Stagni et al., 2018; Vacca et al., 2019).

Outro processo neurobiológico afetado é a maturação neuronal, que se pensa ser determinante no comprometimento cognitivo presente na SD. Nos indivíduos portadores de SD, a árvore dendrítica dos neurónios possui um pequeno número de ramos e, com isto, o seu comprimento dendrítico é afetado e diminuído. Este fenómeno é agravado por uma redução na densidade de espinhas dendríticas, que são o alvo das sinapses excitatórias, resultando numa disrupção da conexão normal entre os neurónios. Além disso, a mielinização dos axónios nos neurónios trissómicos é reduzida, o que torna a condução dos potenciais de ação mais lenta (Stagni et al., 2017). Para além destas alterações, podem também ocorrer variações nas membranas celulares, em vias de sinalização, organelos celulares, no equilíbrio de neurotransmissores excitatórios e inibitórios, como glutamato e ácido gama-aminobutírico (GABA), respetivamente, assim como de recetores a eles associados. No seu conjunto, estes distúrbios no normal desenvolvimento cerebral (Figura 12) provocam modificações funcionais no cérebro de indivíduos com SD que acabam por contribuir para o défice cognitivo (Contestabile et al., 2017; de San Martin et al., 2018; Moretto et al., 2018; Stagni et al., 2017; Vacca et al., 2019; Valenti et al., 2018).



**Figura 12.** Fatores que contribuem para as alterações no neurodesenvolvimento observadas na SD (adaptada de Vacca et al., 2019).

Para se conseguir diminuir estes efeitos negativos no cérebro na SD tem-se observado um grande esforço por parte dos investigadores para identificar os genes extra que limitam o normal desenvolvimento cognitivo (Stagni et al., 2017), sendo que um dos objetivos é silenciar esses genes, algo que parece ser inconcebível mesmo com toda a tecnologia existente atualmente (Rondal, 2021; Wyganowska-Świątkowska et al., 2018).

Pensa-se que o *DYRK1A*, localizado no 21q.22.13, poderá ser um dos genes com poder para moderar o distúrbio cognitivo nos indivíduos com SD, visto ser importante para uma normal neurogênese, neuroplasticidade e diversos outros processos que ocorrem no SNC. Um tratamento não farmacológico alternativo que está a ganhar cada vez mais popularidade, fundamentada em evidências científicas, é a utilização da EGCG. Acredita-se que esta substância consegue atenuar a atividade da proteína codificada pelo gene *DYRK1A*, o que poderá dever-se à sua capacidade para atravessar a BHE, desempenhando uma ação a nível do SNC (de la Torre et al., 2016; Feki & Hibaoui, 2018; Jarhad et al., 2018), um mecanismo que será aprofundado mais à frente.

## V. A importância da epigallocatequina-3-galato na Síndrome de Down

As propriedades benéficas da EGCG, aliadas ao facto de ser um composto proveniente do chá verde, relativamente barato, natural e fácil de obter, acabam por fazer desta substância uma alternativa aos tratamentos farmacológicos (Afzal et al., 2015; Reygaert, 2018).

Na SD, várias opções farmacológicas têm sido estudadas ao longo dos últimos anos com o intuito de reduzir as limitações e melhorar a qualidade de vida dos seus portadores. Muitos destes fármacos têm como objetivo o controlo da sintomatologia associada às comorbilidades, como a demência e doenças psiquiátricas, a epilepsia e as doenças respiratórias (Hefti et al., 2017). Contudo, já são vários os compostos em estudo para o alívio das alterações cognitivas e atrasos no neurodesenvolvimento (de la Torre & Dierssen, 2012). A EGCG tem demonstrado ser uma candidata promissora a este nível, sendo que um dos mecanismos de ação mais estudados é a diminuição da atividade da proteína DYRK1A que, quando em excesso, se associa ao atraso intelectual e alterações comportamentais observadas na SD (Feki & Hibaoui, 2018; Sturgeon et al., 2012).

Como foi dito, o gene *DYRK1A* desempenha um papel importantíssimo no cérebro, participando na formação de novas células neuronais e no controlo do seu crescimento, assim como na sua maturação. Um desequilíbrio neste gene pode causar diversos problemas, como défice cognitivo, dificuldades motoras, atraso na fala, microcefalia, problemas de visão e comportamentais, o que demonstra a sua enorme relevância no que diz respeito aos défices cerebrais que existem em indivíduos com SD (Feki & Hibaoui, 2018; *Simons Foundation*, 2020).

Ao longo da vida, as características cognitivas e comportamentais dos indivíduos com SD não melhoram, tendo até tendência para piorar, o que vai também afetar a capacidade funcional. Isto ocorre dado o grande aumento de proteínas expressas que são codificadas pelos genes presentes nos cromossomas 21 que causa uma cascata de efeitos ao nível do desenvolvimento cerebral do feto e que se refletem em alterações comportamentais nos portadores de SD (de la Torre & Dierssen, 2012).

Além da sobreexpressão do gene *DYRK1A* contribuir significativamente para o declínio cognitivo e atraso mental, a disfunção mitocondrial poderá ser também um fator associado a estas características presentes nas pessoas com SD (Farzaei et al., 2019). As mitocôndrias, além de terem uma função importante na produção de energia, têm ainda um papel crucial na regulação dos processos de sobrevivência e morte celular. São

também responsáveis por controlar os processos de neurogênese e neuroplasticidade, a partir da integração de processos de sinalização de diversas vias metabólicas. Assim, quando ocorre alguma alteração ao nível destas funções podem desenvolver-se doenças neurodegenerativas e atrasos no neurodesenvolvimento, comum na SD, tendo-se já observado danos mitocondriais e défices de energia em modelos animais e em linhas celulares humanas representativas de SD (Valenti et al., 2018). A suplementação com EGCG pode ser útil na estabilização mitocondrial e contribuir para a diminuição/eliminação de ROS, que em excesso originam stress oxidativo no SNC, levando a degeneração e morte neuronal, o que pode culminar em distúrbios neurológicos (Valenti et al., 2018). A EGCG é considerada um quelador de radicais livres dez vezes mais eficaz em relação às vitaminas C e E, pois estas apresentam estruturas mais esterificadas em comparação com a EGCG, tendo mais dificuldade em estabilizar a estrutura do radical fenoxilo (Vacca et al., 2016). Entre as diversas alterações que ocorrem na mitocôndria na SD, são muitas as semelhanças com aquelas encontradas em doenças associadas a esta síndrome e que afetam o cérebro, sugerindo que a disfunção mitocondrial poderá ser um mecanismo etiológico no declínio cognitivo e na deficiência intelectual observada na SD (Valenti et al., 2018).

Apesar de existir alguma controvérsia acerca da ação da EGCG nas mitocôndrias, tem sido feita cada vez mais investigação no sentido de se perceber o verdadeiro papel deste polifenol. Sabe-se que o consumo de EGCG não está associado a efeitos adversos graves, exibindo de uma maneira geral resultados benéficos para a saúde e que, no caso da mitocôndria, regula o seu metabolismo, incluindo o ciclo celular e a apoptose por ela mediada (Oliveira et al., 2016; Shi et al., 2018; Valenti et al., 2016).

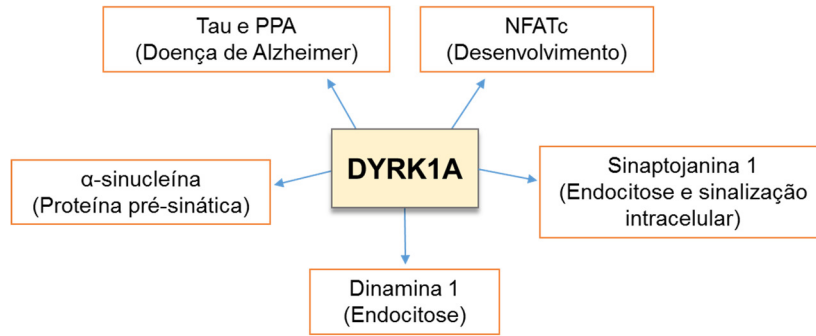
Em geral, a EGCG é um composto com propriedades interessantes para uso na terapêutica da SD, sendo que mais à frente serão explorados alguns estudos que o comprovam. A EGCG desempenha uma ação direta sobre diversas vias de sinalização intracelular, através da interação com fosfolípidos e proteínas da membrana plasmática, além de ações biológicas adicionais quando transportada para organelos intracelulares, como é o caso do núcleo e da mitocôndria. Importa ressaltar que estas ações dependem de vários fatores, entre os quais o tipo de célula, as concentrações de EGCG usadas, o tipo de estudo (*in vivo* ou *in vitro*) e o nível de stress oxidativo presente, podendo os resultados obtidos diferir consoante os mesmos (Kim et al., 2014).

### 5.1. Gene *DYRK1A* e mecanismo de ação

O gene *DYRK1A*, como já mencionado, tem um papel importante na SD, participando nas modificações cerebrais características dos indivíduos portadores desta síndrome. Sabe-se que cerca de 80% da proteína *DYRK1A* expressa se encontra associada à fração citoesquelética das células do cérebro, quer em ratos quer em humanos, e que a restante se localiza no núcleo e citosol, nomeadamente em vários tipos de neurónios, bem como em astrócitos e células endoteliais (Arbones et al., 2019; Duchon & Herault, 2016).

Uma desregulação da *DYRK1A* pode estar na origem de várias patologias, pois esta proteína tem uma enorme influência no SNC, sendo que, no núcleo, se liga às regiões promotoras de genes transcritos pela RNA polimerase II, que estão envolvidos em vários processos celulares, como tradução, processamento de RNA e ciclo celular, regulando desta forma a sua expressão (Di Vona et al., 2015). A sobreexpressão do gene *DYRK1A* está associada à ativação de vias de proliferação celular, o que pode resultar em atrofia dendrítica, défices neuronais, défices cognitivos e uma neurodegeneração prematura muito semelhante à DA (Antonarakis, 2017; GeneCards, 2021). Como já referido no capítulo anterior, este gene está localizado no cromossoma 21 na região crítica da SD, daí se ter tornado um dos alvos terapêuticos de maior interesse, pois a diminuição/inibição da atividade da proteína por ele codificada pode aliviar os efeitos da sua sobreexpressão no cérebro. Assim, os investigadores têm feito esforços para encontrar compostos capazes de inibir a ação desta cinase e, com isto, melhorar a qualidade de vida das pessoas com SD, como é o caso da EGCG (Stagni et al., 2017).

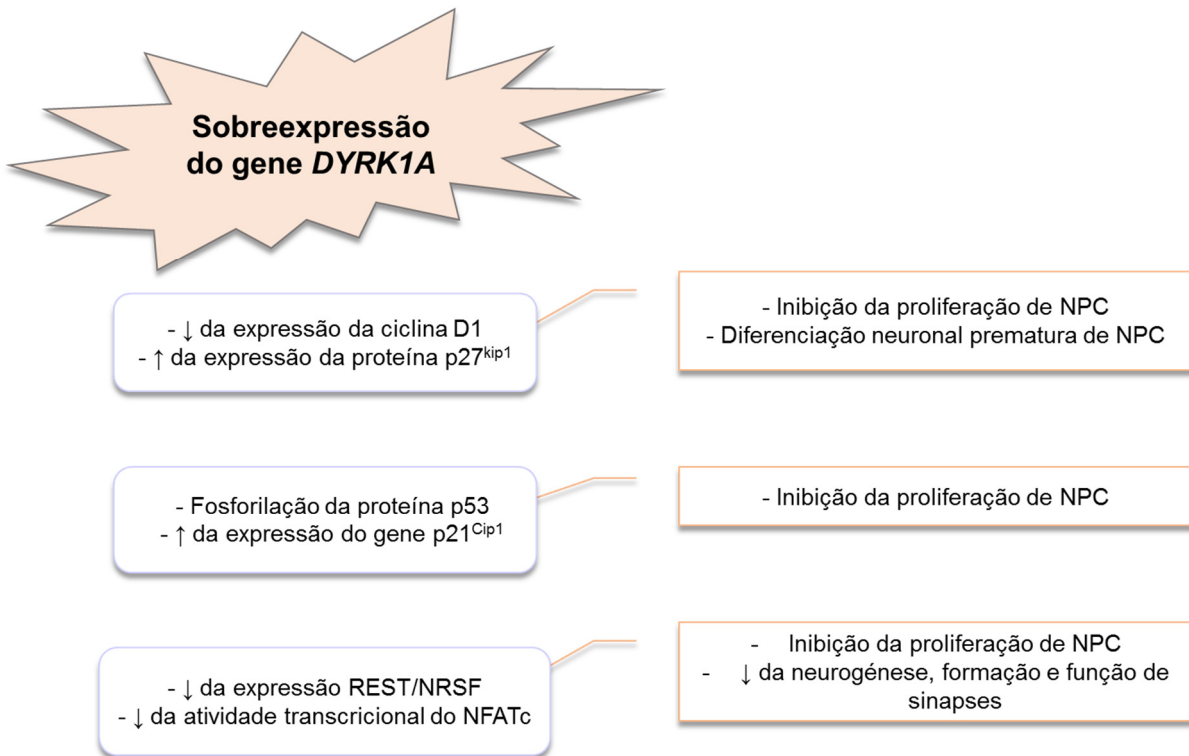
O gene *DYRK1A* é responsável por controlar grande parte dos processos fisiológicos importantes nas diferentes fases de evolução do cérebro ao longo da vida de uma pessoa, desde o início do seu desenvolvimento, participando na neurogénese, durante o seu funcionamento, na plasticidade neuronal, até ao seu envelhecimento (Figura 13).



**Figura 13.** Alvos de fosforilação da proteína DYRK1A no cérebro. NFATc, fator nuclear das células T ativadas; PPA, proteína precursora amiloide (adaptada de Wiseman et al., 2009).

Isto devido ao grande número de substratos que são fosforilados e assim regulados por esta proteína, incluindo a ciclina D1 (participa na regulação do ciclo celular e neurogênese),  $\alpha$ -sinucleína (regulação pré-sináptica), PPA (associada à DA), dinamina 1 (regula o processo de endocitose e exocitose nas sinapses), entre muitos outros (Arbones et al., 2019; Stagni et al., 2018). No cérebro de pessoas com SD a expressão do gene *DYRK1A* é em média 1,5 vezes mais elevada, enquanto um déficit da sua expressão poderá estar relacionado com autismo, algo revelado por uma análise dos rearranjos cromossômicos e mutações (Arbones et al., 2019).

A EGCG tem capacidade para inibir a DYRK1A, sendo que a uma concentração de 330 nanomolar (nM) é capaz de inibir 50% da sua atividade. Isto contribui para um aumento da pesquisa em torno desta molécula e dos seus efeitos na SD (Feki & Hibaoui, 2018). Diversos estudos, tanto em ratos como em humanos com SD, demonstram que a EGCG regula a neurogênese e a função cognitiva, melhorando desta forma a aprendizagem e a memória (Long et al., 2019; Stagni et al., 2015). A sobreexpressão do gene *DYRK1A* pode atuar através de diversos mecanismos de ação no cérebro, os quais se encontram esquematizados na figura 14.



**Figura 14.** Possíveis mecanismos de ação do gene *DYRK1A*. NFATc, fator nuclear das células T ativadas; NPC, células neuroprogenitoras; REST/NRSF, fator silenciador restritivo aos neurónios (adaptada de Feki & Hibaoui, 2018).

De acordo com a figura, um dos possíveis mecanismos de ação está relacionado com a regulação da ciclina D1 pela *DYRK1A* que, quando fosforilada, é exportada para fora do núcleo e degradada, permitindo a entrada da célula na fase S/síntese de DNA do ciclo celular. Sabe-se que esta proteína aumenta a duração da fase G<sub>1</sub>, por redução da expressão da ciclina D1, o que vai resultar na inibição da proliferação de células neuroprogenitoras (NPC) e, conseqüentemente, induzir a diferenciação neuronal prematura das mesmas (Chen et al., 2013; Yabut et al., 2010). Ocorre também uma sobreexpressão da p27<sup>kip1</sup>, cujo aumento vai inibir a ação dos complexos ciclina/cinase dependente de ciclina (CDK) que controlam a passagem da fase G<sub>1</sub> para a S, promovendo, também, a saída do ciclo celular e a diferenciação neuronal (Hämmerle et al., 2011). Um outro mecanismo possível ocorre devido à fosforilação da proteína p53 pela *DYRK1A*, o que leva a uma regulação positiva de genes alvo da p53, incluindo o p21<sup>cip1</sup>, também um membro da família de inibidores de CDK. Níveis aumentados de p21<sup>cip1</sup> em cérebros de ratos transgênicos com SD foram verificados experimentalmente (Park et al., 2010). Um desequilíbrio na *DYRK1A* poderá também promover a degradação do fator silenciador restritivo de neurónios (REST/NRSF), que participa nos mecanismos de neurodesenvolvimento, como

a especificação da linhagem neuronal, a formação e a função de sinapses. Assim, como esta expressão se encontra reduzida nas NPC na SD ocorrerá um declínio nos processos que regulam a adesão celular e a função de sinapses (Feki & Hibaoui, 2018). Por último, o fator nuclear das células T ativadas (NFATc), um fator de transcrição envolvido na ativação imunológica e na progressão tumoral, é fosforilado pela DYRK1A, diminuindo a sua atividade e, conseqüentemente, a proliferação das NPC por redução de células na fase G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> do ciclo celular (Feki & Hibaoui, 2018; Liu et al., 2017). Uma cooperação entre a proteína reguladora da calcineurina-1, codificada pelo gene *RCAN1* (presente na região crítica do cromossoma 21), e a DYRK1A desencadeia uma disfunção ainda maior na via NFATc (Liu et al., 2017). Uma das funções primárias do regulador da calcineurina-1 é a regulação dos processos mitocondriais que, como já foi referido anteriormente, têm um impacto considerável na SD. Deste modo, a sobreexpressão crónica do gene *RCAN1* conduz a alterações fisiopatológicas nos neurónios de indivíduos portadores da síndrome (Peiris & Keating, 2018).

Importa ainda referir que, atualmente, já existem biomarcadores para avaliar a expressão da DYRK1A em pessoas com SD, como é o caso da homocisteína, uma vez que os seus níveis no plasma sanguíneo se correlacionam inversamente com os níveis de expressão da DYRK1A. Deste modo, quando esta proteína está aumentada, a homocisteína estará diminuída (de la Torre et al., 2013).

## **5.2. Défice de energia mitocondrial e stress oxidativo**

O stress oxidativo e a inflamação desempenham um papel importante no declínio cognitivo e até mesmo no desenvolvimento de demência, podendo alterações na função mitocondrial estar também envolvidas (Farzaei et al., 2019). A mitocôndria é um organelo produtor de energia, com capacidade para gerar radicais livres, sendo um alvo de ROS. Em condições normais, as ROS estão envolvidas nos processos de memória e aprendizagem, na manutenção da plasticidade sináptica e têm ainda um papel crucial na inflamação. No entanto, quando em excesso, podem originar danos oxidativos em macromoléculas e, conseqüentemente, interferir em processos celulares vitais (Valenti et al., 2018). É importante referir que no líquido amniótico de gestações de fetos com SD foram encontrados marcadores de stress oxidativo, tais como proteínas oxidadas (Perluigi et al., 2011). Além disso, já foi reportado um aumento de ROS e disfunção mitocondrial em células trissómicas, durante a fase embrionária (Valenti et al., 2018).

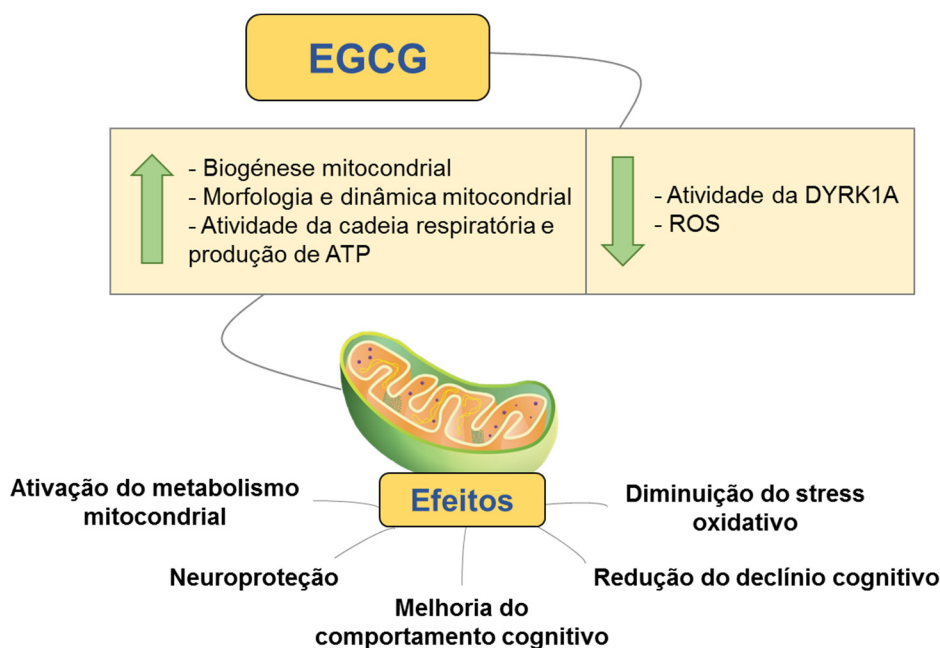
O stress oxidativo faz parte do fenótipo de indivíduos com SD, devendo-se em parte ao desequilíbrio entre as atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx). Enquanto a expressão e atividade da SOD estão aumentadas na SD, a expressão da GPx está diminuída, podendo isto estar relacionado com a redução das defesas antioxidantes nestes indivíduos (Valenti et al., 2018). Na população em geral, alterações do metabolismo associadas à idade, aumento de adipócitos e degeneração neuronal também contribuem para um aumento do stress oxidativo (Farzaei et al., 2019). Sabe-se que este stress oxidativo, bem como a disfunção mitocondrial (Figura 15) conduzem a um aumento de danos nas células e tecidos, podendo estar relacionados com o processo de envelhecimento acelerado e, conseqüentemente, precoce e com o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas aos quais os portadores de SD são mais suscetíveis (Valenti et al., 2018).



**Figura 15.** Disfunções mitocondriais na SD. ROS, espécies reativas de oxigénio (adaptada de Valenti et al., 2018).

As várias etapas da neurogênese e neuroplasticidade no adulto são altamente influenciadas pelo metabolismo da mitocôndria, nomeadamente a formação de células neuronais especializadas, o crescimento de axónios e dendrites e a formação/reorganização de sinapses. Quando as mitocôndrias são ativadas ocorre uma alteração metabólica que permite a passagem do processo de glicólise para o processo de fosforilação oxidativa, e que vai mediar o destino da célula para se iniciar o processo de neurogênese. Na SD sabe-se que existe um desequilíbrio nestes processos, pela alteração da função mitocondrial, o que irá desencadear uma modificação na célula, afetando negativamente os mecanismos de neurogênese e de neuroplasticidade (Vacca et al., 2019;

Xavier et al., 2015). Já foi demonstrado que a EGCG tem efeitos benéficos na função mitocondrial, sendo capaz de regular o seu metabolismo e outros processos relacionados com este organelo (Shi et al., 2018; Valenti et al., 2018), como está representado na figura 16. Esta ação pode representar uma possível melhoria na qualidade de vida das pessoas com SD.



**Figura 16.** Efeitos da EGCG na mitocôndria e na SD. ATP, adenosina trifosfato; DYRK1A, cinase 1A regulada por fosforilação de tirosina de dupla especificidade; EGCG, epigallocatequina-3-galato; ROS, espécies reativas de oxigênio (adaptada de Valenti et al., 2018).

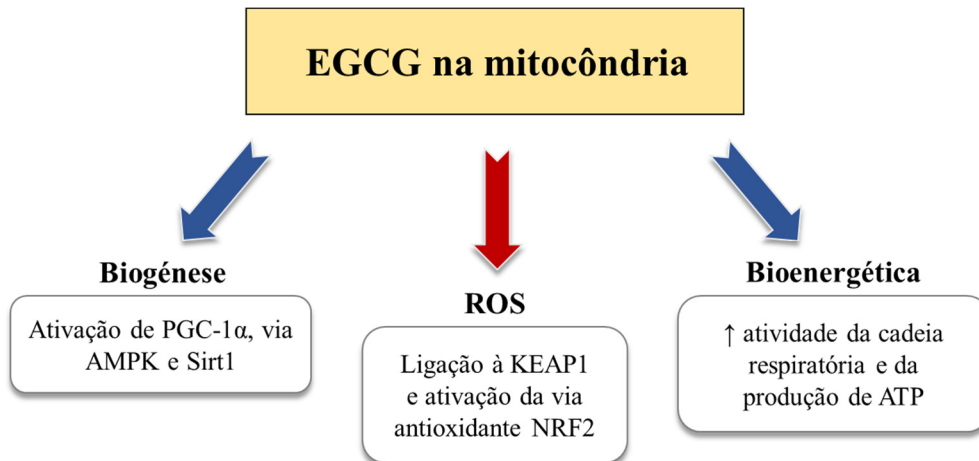
A EGCG é conhecida pela sua atividade antioxidante, prevenindo o stress oxidativo em determinadas concentrações, pelo que introduzir este polifenol na dieta poderá atenuar significativamente a produção de ROS associada à disfunção mitocondrial. Desta forma, pode conseguir-se uma prevenção de determinadas doenças associadas à SD (Shi et al., 2018).

Apesar de ainda ser necessário desenvolver mais estudos, já existem evidências dos benefícios da EGCG em portadores de SD. Num estudo realizado em 2013, demonstrou-se que a EGCG era capaz de neutralizar o stress oxidativo, restabelecer a atividade catalítica do complexo I e da ATP sintetase da cadeia respiratória e restaurar a eficiência da fosforilação oxidativa em linfoblastos e fibroblastos de indivíduos com SD (Valenti et al., 2013). Num outro estudo, de 2015, foi realizada a administração diária, durante seis meses, a uma criança de 10 anos com SD, de 10 mg/kg de EGCG em associação com

8 mg/kg de óleo de peixe rico em ácidos gordos ómega-3, com a função de aumentar a biodisponibilidade e a eficácia da EGCG. À emulsão formada foi ainda adicionado sumo de laranja com vitamina C de modo a ter um sabor mais apelativo e ainda para prevenir a oxidação da EGCG. Os resultados demonstraram que esta formulação tinha capacidade para restaurar o défice de atividade dos complexos da cadeia respiratória mitocondrial. Assim, a EGCG parece ser eficaz na reversão da disfunção mitocondrial *in vivo*, assim como na melhoria de alguns aspetos comportamentais, demonstrando também ser segura nestas doses em idade pediátrica (Vacca & Valenti, 2015).

Embora a EGCG pareça ser promissora como alternativa aos fármacos convencionais usados na SD e em outras doenças neurodegenerativas, dadas as suas fortes propriedades antioxidantes e restabelecimento das funções mitocondriais, ainda há muito por se perceber no que respeita aos mecanismos de ação desta catequina (Vacca et al., 2019). Por outro lado, mediante os estudos que já foram desenvolvidos, acredita-se que a EGCG, de uma forma resumida, conseguirá atuar a diversos níveis (Figura 17):

- Na biogénese mitocondrial, por promoção da atividade do coativador 1-alfa do recetor gama ativado por proliferadores do peroxissoma (PGC-1 $\alpha$ ), um importante regulador deste processo, através da ativação de duas outras proteínas que também o modulam, a cinase ativada pela adenosina monofosfato (AMPK) e a sirtuína 1 (Sirt1), formando a via de sinalização AMPK/Sirt1/PGC-1 $\alpha$  (Shi et al., 2018; Valenti et al., 2018);
- Na regulação das ROS mitocondriais, na qual se pensa que atua por ligação à proteína 1 associada à ECH do tipo *Kelch* (KEAP1), inibindo-a; deste modo, ocorre a ativação da via do fator nuclear 2 relacionado ao eritroide 2 (NRF2), reguladora da expressão de genes antioxidantes, permitindo reduzir o stress oxidativo (Shi et al., 2018);
- Na bioenergética da mitocôndria, através da manutenção da sua homeostase por aumento da atividade da cadeia respiratória e da produção de ATP, o que permite uma maior produção de energia para o crescimento celular, assim como para o funcionamento de diversos processos bioquímicos importantes para o desenvolvimento cerebral e cognitivo (Shi et al., 2018; Valenti et al., 2018).



**Figura 17.** Atuação da EGCG nos diferentes processos da mitocôndria. AMPK, cinase ativada pela adenosina monofosfato; ATP, adenosina trifosfato; KEAP1, proteína 1 associada à ECH do tipo *Kelch*; NRF2, fator nuclear 2 relacionado ao eritroide 2; PGC-1 $\alpha$ , coativador 1-alfa do recetor gama ativado por proliferadores do peroxissoma; ROS, espécies reativas de oxigênio; Sirt1, sirtuína 1 (adaptada de Shi et al., 2018).

Posto isto, acredita-se que a mitocôndria seja um alvo farmacológico essencial para a manutenção do equilíbrio oxidativo e, deste modo, para um crescimento e desenvolvimento neuronal normal, fundamental para o bom funcionamento de todos os mecanismos neurológicos. Assim, a utilização de agentes terapêuticos capazes de melhorar as alterações neurobiológicas complexas que ocorrem na SD, como é o caso da EGCG, pode ser algo muito benéfico, dada a sua ampla ação sobre diversos alvos e capacidade de prevenir ou restaurar de forma eficaz os distúrbios associados ao neurodesenvolvimento (Vacca et al., 2019).

### 5.3. Estudos em modelos animais

Atualmente, são vários os estudos realizados em modelos animais com o objetivo de se compreender de que forma a EGCG consegue recuperar as funções cerebrais e melhorar fenótipos cognitivos inerentes à SD. Várias doses de EGCG têm sido testadas em ratos, principalmente no modelo Ts65Dn. Não existindo um modelo capaz de mimetizar perfeitamente a SD, o Ts65Dn é o mais representativo desta condição genética por ser o mais bem caracterizado e possuir cerca de metade dos genes presentes no cromossoma 21 humano. Os ratos deste modelo apresentam fenótipos associados à SD, como alterações craniofaciais e esqueléticas e déficit cognitivo e verifica-se também que o gene *DYRK1A* está presente em triplicado no seu genoma (McElyea et al., 2016). Não obstante, este modelo apresenta algumas limitações: não possui alguns genes que estão presentes no cromossoma 21 humano, possui outros que são não-trissômicos em humanos e são

gerados em mães trissômicas, o que pode afetar o seu desenvolvimento, independentemente da SD da qual são portadores. Apesar de todas estas complexidades, o modelo Ts65Dn modula de uma forma específica aspetos da SD, o que por si só é uma vantagem (Stagni et al., 2015). O modelo Ts65Dn tem sido usado para testar os efeitos das mais variadas terapias farmacológicas e não farmacológicas na melhoria das disfunções características da SD. Quando os resultados são promissores, prossegue-se para os ensaios clínicos em humanos. No entanto, os resultados positivos que se observam nos ratos trissômicos, na maior parte das vezes, não se traduzem nos humanos, sendo a taxa de insucesso dos ensaios clínicos superior a 80%, considerando os diversos modelos de rato de doenças existentes (Stringer et al., 2017b).

Nos estudos com modelos animais de SD há variáveis que é preciso ter em conta e que podem diferir de estudo para estudo, como a idade, os diferentes modelos de rato usados, as doses administradas e a composição da formulação com EGCG. Relativamente a esta, alguns estudos associam-na a outros suplementos, como cafeína, sacarose ou até mesmo outras catequinas, tendo-se já verificado que nem sempre a EGCG pura em determinadas doses é a opção que consegue atingir melhores resultados (Stringer et al., 2017b). Quanto aos estudos já realizados com o modelo Ts65Dn, existem evidências de que a EGCG consegue melhorar parcialmente as alterações no desenvolvimento do cérebro e no comportamento, ainda que não consiga normalizar totalmente estes fenótipos (Stagni et al., 2017). Num estudo com ratos jovens (3 meses de idade) foi feita a administração de uma solução de EGCG (2-3 mg/dia) com 0,8% de cafeína durante 1 mês, com o objetivo de testar os seus efeitos, enquanto inibidora da atividade da DYRK1A, na aprendizagem e memória. Os resultados foram positivos nestes dois campos, demonstrando a capacidade da EGCG para melhorar os défices cognitivos associados à SD, através da normalização da atividade da DYRK1A (de la Torre et al., 2013). Num estudo realizado com o mesmo modelo, Ts65Dn, mas durante o período neonatal, tentou perceber-se se era possível restaurar o desenvolvimento do hipocampo logo após o nascimento. Para tal, foram administrados 25 mg/kg/dia de EGCG pura, desde o 3º dia até ao 15º dia após o nascimento, tendo-se analisado os efeitos do tratamento logo após o seu término (curto prazo) e ao fim de 1 mês (longo prazo). Os resultados obtidos ao fim dos 15 dias de tratamento demonstraram recuperação da neurogénese e da conectividade no hipocampo. Porém, a longo prazo, os resultados não foram satisfatórios, sendo que os efeitos benéficos observados a curto prazo se desvaneceram (Stagni et al., 2016). Para avaliar os efeitos da EGCG num período pré-natal, foram administrados 200 mg/kg de EGCG, duas

vezes ao dia, às fêmeas grávidas, nos dias 7 e 8 da fase embrionária, tendo-se observado uma melhoria na dismorfologia craniofacial, fenótipo muito característico da SD (McElyea et al., 2016). Num outro estudo foram avaliados os efeitos da EGCG pura (20 mg/kg/dia) administrada 24 dias após o nascimento dos ratinhos, prolongando-se o tratamento durante 3 ou 7 semanas. Os resultados demonstraram que a EGCG não foi capaz de melhorar as capacidades de memória e aprendizagem, independentemente da duração do tratamento (Stringer et al., 2015). Mais recentemente, em dois estudos feitos com ratos com 2 a 3 meses de idade, é reportada a eficácia da EGCG na melhoria da performance cognitiva e memória, aspetos comportamentais, entre outros processos, através da inibição da atividade da DYRK1A. Num deles foi administrado um extrato de chá verde, correspondendo à administração diária de 2 a 3 mg de EGCG, durante 1 mês (Alemany-González et al., 2020), enquanto no outro foi usado um extrato de chá verde correspondente a uma dose de 42 mg/kg/dia de EGCG, durante 1 mês, em associação com um ambiente enriquecido, nomeadamente uma jaula com elementos interativos (De Toma et al., 2020). Em suma, estes estudos demonstram a influência de condições diferentes nos resultados observados, embora tenha sido utilizado o mesmo modelo animal.

Se por um lado os mecanismos através dos quais a triplicação de genes conduz ao comprometimento cognitivo na SD não estão totalmente esclarecidos, por outro existem estudos com evidências promissoras que aumentam a esperança no restabelecimento das funções cognitivas. Assim, os resultados dos estudos pré-clínicos desenvolvidos permitem concluir que é necessário prosseguir com a investigação da EGCG na SD, sobretudo para se perceber se os efeitos observados nas intervenções precoces, com possível administração durante a gravidez, se traduzem em bons resultados em humanos e viabilizam o seu uso na terapêutica (Stagni et al., 2015).

#### **5.4. Ensaios clínicos em humanos**

Existem estudos que comprovam a eficácia da EGCG em humanos com SD, no entanto ainda há um longo caminho a percorrer no que diz respeito à dose de administração mais indicada, que deve ser eficaz, sem provocar toxicidade. Como os suplementos dietéticos à base de EGCG são considerados naturais e saudáveis poderá achar-se que não têm qualquer efeito adverso associado, o que não é verdade, sendo que a EGCG em doses elevadas pode originar produção de ROS. De facto, 600 mg/dia é a dose estabelecida como nível máximo sem efeitos adversos observáveis (NOAEL) em humanos, sendo 322 mg/dia a dose considerada aceitável para um adulto de 70 kg (Ouyang et al., 2020).

Num determinado ensaio-piloto, de fase I, com a duração de três meses, participaram 29 jovens portadores de SD, com idades compreendidas entre os 14 e os 29 anos. Estes foram divididos em dois grupos: um grupo ao qual foram administrados diariamente extratos de chá verde contendo EGCG (9 mg/kg), por via oral em forma de cápsula, e um grupo ao qual foi administrado o placebo. Os objetivos eram perceber os benefícios clínicos e segurança da EGCG e quais os efeitos a curto prazo a nível da performance neurocognitiva, assim como a persistência desses mesmos efeitos após interrupção do tratamento. Os resultados demonstraram que a EGCG aumentou significativamente a memória visual, o desempenho da memória de trabalho, a velocidade psicomotora e o comportamento social no grupo tratamento, em comparação com os indivíduos do grupo placebo. Nos 3 meses seguintes, nos quais não foi administrado qualquer tratamento verificaram que os efeitos observados diminuía. Assim, concluíram que a EGCG tem um efeito positivo na cognição na SD e que a sua eficácia pode depender também da diminuição da atividade da DYRK1A, demonstrada por uma normalização dos níveis sanguíneos do biomarcador homocisteína. Além disso, a EGCG revelou ter um perfil de segurança favorável em jovens com SD (de la Torre et al., 2013).

Num estudo de fase II, desenvolvido pelo mesmo grupo de investigação, participaram 84 indivíduos portadores de SD, com idades compreendidas entre os 16 e os 34 anos (41 indivíduos no grupo placebo, com estimulação cognitiva, e 43 no grupo tratado com EGCG conjuntamente com estimulação cognitiva). Este teve a duração de 12 meses, tendo sido administrado diariamente um suplemento, na forma de cápsula, contendo 45% de EGCG (dose oral média – 9 mg/kg). O objetivo era avaliar a eficácia da EGCG na melhoria de aspetos cognitivos quando em combinação com estimulação cognitiva. Durante os 12 meses de tratamento e nos 6 meses após a finalização do mesmo, foram feitos testes neuropsicológicos para avaliar a evolução dos participantes. Deste modo, concluíram que houve diferenças entre os 2 grupos: o grupo que recebeu EGCG conjuntamente com estimulação cognitiva manifestou melhorias nos comportamentos adaptativos e desempenho cognitivo, apresentando uma maior precisão e velocidade de resposta em relação ao grupo placebo com estimulação cognitiva, tendo estes efeitos persistido mesmo após 6 meses da interrupção do tratamento (de la Torre et al., 2016).

Mais recentemente, este grupo de investigação começou a desenvolver um estudo com crianças portadoras de SD, entre os 6 e os 12 anos, cujo objetivo principal é avaliar a segurança e tolerabilidade da EGCG (10 mg/kg/dia) em idade pediátrica (Identificador ClinicalTrials.gov: NCT03624556). O objetivo secundário é avaliar os seus efeitos na

atenção, memória, função executiva, linguagem e comportamento adaptativo das crianças, a par da quantificação dos níveis de DYRK1A e homocisteína no plasma, não existindo ainda resultados (ClinicalTrials.gov, 2019).

Embora estes estudos revelem a eficácia e tolerabilidade da EGCG, é necessário prosseguir com mais ensaios clínicos para se comprovar os seus efeitos na melhoria da função cognitiva em indivíduos com SD. Devem também ser feitos estudos dose-resposta, para se perceber exatamente quais as doses adequadas, e procurar melhorar a sua biodisponibilidade. Além disso, os ensaios com animais sugerem que quanto mais cedo se administrarem os suplementos alimentares com EGCG mais eficazes serão, pelo que o seu possível uso pré-natal ou no início da infância é algo a ser aprofundado. Estes vários estudos permitem indicar que o tratamento com EGCG ou extratos de polifenóis, dadas as suas propriedades benéficas, pode ser uma realidade futura na reversão de certas disfunções presentes na SD (Stagni et al., 2015; Vacca et al., 2016).

## **VI. Suplementação com epigallocatequina-3-galato**

Sendo a SD uma das condições genéticas com maior predomínio, associada a várias disfunções orgânicas, devem ser tomadas medidas desde a infância para evitar o desenvolvimento de certas comorbidades, como a DA, numa fase mais avançada da vida. Tais medidas passam pela prática de atividade física, estimulação mental e adoção de uma dieta equilibrada e rica em determinados nutrientes, nomeadamente vitaminas (sobretudo do complexo B e vitamina E, conhecida pelas suas propriedades antioxidantes), ómeegas 3 e 6, minerais, hidratos de carbono complexos, entre outros (Mazurek & Wyka, 2015). No que respeita aos antioxidantes, sabe-se que os polifenóis são compostos bioativos naturalmente presentes e abundantes em determinados alimentos, como fruta e vegetais. Porém, grande parte da população do Ocidente não ingere quantidade suficiente destes alimentos, logo a ingestão de polifenóis na dieta humana acaba por ser reduzida. Tendo isto em conta, há cada vez mais pessoas que recorrem à suplementação alimentar como forma de compensar a carência de certos nutrientes, recorrendo também a outro tipo de suplementos não nutritivos, como o chá verde rico em polifenóis. Importa referir que a regulamentação relativa aos suplementos alimentares varia entre diferentes países, sendo uns mais rigorosos que outros. Do mesmo modo, existem fabricantes que comercializam suplementos polifenólicos com quantidades semelhantes às encontradas em alimentos e bebidas, e outros que excedem essas quantidades, podendo constituir um risco para a saúde. Assim, independentemente dos benefícios, a utilização destes suplementos deve ser feita com cautela e por recomendação do médico ou farmacêutico (Marquardt & Watson, 2014).

Na última década, tem aumentado a esperança no que diz respeito ao desenvolvimento de novas intervenções terapêuticas em indivíduos com SD, destinadas a melhorar os défices cognitivos e intelectuais e, por conseguinte, a qualidade de vida quer dos portadores desta síndrome quer dos seus cuidadores. Assim, compete à comunidade científica continuar o trabalho de pesquisa capaz de gerar evidências científicas claras, objetivas e concretas relativamente à eficácia e segurança dessas terapêuticas (Stringer et al., 2017b). Os inibidores da atividade da DYRK1A são moléculas promissoras na terapêutica da SD, nas quais se inclui a EGCG (Feki & Hibaoui, 2018). Existem já suplementos com EGCG especialmente formulados para colmatar as necessidades nutricionais de portadores de SD. Um deles é o FontUp<sup>®</sup>, comercializado em saquetas ou na forma de cápsula. É constituído por extratos de chá verde e rico em fibras, possuindo

também na sua composição alguns minerais e vitaminas que contribuem para a normalização da função cognitiva e para a proteção contra o stress oxidativo. O suplemento em saquetas contém no mínimo 250 mg de EGCG por 266 mg de extrato de chá verde, e tem sabor a chocolate, tratando-se de uma nova fórmula produzida com o intuito de melhorar o desenvolvimento cognitivo. As fibras presentes neste suplemento ajudam na regulação do trânsito intestinal, o que é relevante no caso dos indivíduos com SD, dada a tendência para terem alterações intestinais. É importante salientar alguns aspetos, como: utilizar este suplemento com autorização do médico, não administrar a menores de 16 anos e não exceder as 2 doses diárias recomendadas (de manhã, ao pequeno almoço, e à noite, depois do jantar ou antes de deitar) (FontDirect<sup>®</sup>, 2017; Gu et al., 2020). Quanto ao FontUp<sup>®</sup> em cápsulas, é de fácil toma graças ao seu pequeno tamanho e sabor neutro. Cada cápsula contém 222,5 mg de chá verde, dos quais 100 mg são EGCG. A dose recomendada é de 3 cápsulas/dia, preferencialmente às refeições principais, não devendo exceder esta quantidade (FontDirect<sup>®</sup>, n.d.). Um estudo pré-clínico realizado recentemente em ratos que sobreexpressam o gene *DYRK1A* comprovou a biodisponibilidade, normalização de biomarcadores relacionados com a sobreexpressão de *DYRK1A*, como a homocisteína, e a segurança deste suplemento alimentar (Gu et al., 2020).

Na empresa Life Extension<sup>®</sup> também se encontram suplementos à base de extratos de chá verde. Estes contêm 98% de polifenóis, incluindo EGCG, atuando como antioxidantes e prevenindo o envelhecimento de uma forma precoce. São comercializados na forma de cápsula (725 mg, dos quais 326,25 mg são EGCG) e podem ou não conter cafeína (Life Extension<sup>®</sup> Europe, n.d.). Existem ainda outros suplementos com diferentes dosagens de extrato de chá verde que alegam possuir cerca de 50% de EGCG na sua composição, sendo comercializados por marcas relacionadas com nutrição desportiva, como a Prozis e a Zumub (Prozis, 2021; Zumub, 2021). Porém, importa reforçar que é vasta a gama de suplementos que se pode encontrar à venda *online*, sendo todos eles de fácil acessibilidade.

Além da EGCG, existem outros inibidores da atividade da *DYRK1A* que estão a ser estudados quanto à sua eficácia, segurança e biodisponibilidade, como é o caso do ALGERNON, o BINDY, o FINDY, o CANDY, entre outros (Arbones et al., 2019). Importa ainda referir que a EGCG pode ter interações com determinados fármacos, como rosuvastatina, sinvastatina, nadolol e varfarina, podendo contribuir para a ocorrência de danos no fígado. Desta forma, é fundamental haver um acompanhamento médico

aquando da toma destes suplementos. No geral, os cuidadores de indivíduos com SD não recorrem muito ao uso de extratos de chá verde com EGCG, devido a incertezas quanto à dosagem/administração adequada, ao seu custo, à falta de conhecimento, mas sobretudo por receio que ocorram efeitos adversos e por falta de evidência científica da sua eficácia. Assim, apesar de estarem a ser feitos estudos para comprovar a sua eficácia, com o propósito de melhorar a qualidade de vida das pessoas portadoras de SD, a grande maioria dos cuidadores nunca ouviu falar da suplementação com EGCG ou já leu sobre a mesma na internet, mas optou por não recorrer ao seu uso (Long et al., 2019).

## VII. Conclusão

Com a evolução da ciência e o passar dos anos a Síndrome de Down foi ganhando lugar na comunidade científica. Há cada vez mais interesse em perceber como os genes sobreexpressos atuam no organismo destes indivíduos, quais são os mecanismos envolvidos nos seus efeitos e até que ponto a disfunção mitocondrial afeta o desenvolvimento e funcionamento normal do organismo, sendo estes alguns dos pontos-chave nos quais se poderá atuar no sentido de melhorar a qualidade de vida destas pessoas e daqueles que os rodeiam descobrindo novas fórmulas terapêuticas para tentar minimizar os efeitos que inevitavelmente um cromossoma extra no par 21 incita, sabendo que até aos dias de hoje esta síndrome não tem uma cura possível.

Entre todos os genes existentes em triplicado no genoma dos indivíduos com SD, acredita-se que o gene *DYRK1A* é aquele que possui uma maior influência no declínio cognitivo e baixa capacidade intelectual característicos desta síndrome. Estudos feitos em animais e humanos demonstraram que o polifenol EGCG, presente no chá verde, é capaz de diminuir a atividade da proteína DYRK1A, controlar o envelhecimento celular precoce, minimizar a disfunção mitocondrial e diminuir o stress oxidativo, promovendo uma melhoria da função cognitiva. Assim, poderá contribuir para um aumento da qualidade de vida das pessoas portadoras de SD, esperando-se que num futuro próximo exista uma maior quantidade de suplementos e/ou fármacos com eficácia, segurança e biodisponibilidade comprovadas nesta síndrome.

Por último, importa referir que é necessário continuar a aprofundar os estudos acerca de como a EGCG atua realmente sobre o gene *DYRK1A* e o seu produto, assim como clarificar qual a dose exata que uma pessoa deve administrar por dia para que a mesma desencadeie todos os efeitos benéficos mencionados ao longo deste trabalho. Deste modo, os médicos terão mais confiança na recomendação deste género de terapêutica a pessoas com SD, não esquecendo o papel fundamental do farmacêutico tanto no aconselhamento como na dispensa dos mesmos, que deverá promover o seu uso com moderação para evitar eventuais riscos para a saúde.

### VIII. Bibliografia

- Afzal, M., Safer, A. M., & Menon, M. (2015). Green tea polyphenols and their potential role in health and disease. *Inflammopharmacology*, 23(4), 151-161.
- Akhtar, F. & Bokhari, S. R. A. (2021). *Down Syndrome*. Treasure Island (FL), StatPearls Publishing LLC.
- Aleman-González, M., et al. (2020). Prefrontal-hippocampal functional connectivity encodes recognition memory and is impaired in intellectual disability. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 117, 11788-11798.
- Alzheimer's Association. (2019). Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*, 15, 321-387.
- Antonarakis, S. E. (2017). Down syndrome and the complexity of genome dosage imbalance. *Nat Rev Genet*, 18, 147-163.
- Antonarakis, S. E., et al. (2020). Down syndrome. *Nat Rev Dis Primers*, 6, 9.
- Arbones, M. L., et al. (2019). DYRK1A and cognition: A lifelong relationship. *Pharmacol Ther*, 194, 199–221.
- Asim, A., et al. (2015). Down syndrome: an insight of the disease. *J Biomed Sci*, 22, 41.
- Baburamani, A. A., et al. (2019). New approaches to studying early brain development in Down syndrome. *Dev Med Child Neurol*, 61(8), 867–879.
- Bartesaghi, R., Guidi, S. & Ciani, E. (2011). Is it possible to improve neurodevelopmental abnormalities in Down syndrome? *Rev Neurosci*, 22(4), 419-455.
- Bekris, L. M., et al. (2010). Genetics of Alzheimer disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 23(4), 213–227.
- Bennetzen, J (2019). Culturing better tea research. *Nature*, 566(7742), S5.
- Bianchi, P., et al. (2010). Early pharmacotherapy restores neurogenesis and cognitive performance in the Ts65Dn mouse model for Down syndrome. *J Neurosci*, 30(26), 8769–8779.
- Birch, A. M., Katsouri, L. & Sastre, M. (2014). Modulation of inflammation in transgenic models of Alzheimer's disease. *J Neuroinflamm*, 11, 25.

- Bull, M. J. (2011). Health Supervision for Children With Down Syndrome. *Pediatrics*, 128, 393-406.
- Bull M. J. (2020). Down Syndrome. *N Engl J Med*, 382(24), 2344–2352.
- Cai, Y., et al. (2015). High doses of (-)-epigallocatechin-3-gallate from green tea induces cardiac fibrosis in mice. *Biotechnol Lett*, 37(12), 2371–2377.
- Campos, M. (2005). Autopercepções em crianças e jovens com Síndrome de Down - Estudo da competência percebida e da aceitação social. Tese de mestrado em Ciências do Desporto, na área da Actividade Física Adaptada. Faculdade de Ciências do Desporto e Educação Física – Universidade do Porto, Porto.
- Capone, G. T. (2020). Current Research Approaches to Down Syndrome: Translational Research Perspectives. *Am J Intellect Dev Disabil*, 125, 93-96.
- Carrasco-Pozo, C., Cires, M. J., & Gotteland, M. (2019). Quercetin and Epigallocatechin Gallate in the Prevention and Treatment of Obesity: From Molecular to Clinical Studies. *J Med Food*, 22(8), 753–770.
- Cascella, M., et al. (2017). The efficacy of Epigallocatechin-3-gallate (green tea) in the treatment of Alzheimer's disease: an overview of pre-clinical studies and translational perspectives in clinical practice. *Infect Agents Cancer*, 12, 36.
- Chakrawarti, L., et al. (2016). Therapeutic effects of EGCG: a patent review. *Expert Opin Ther Pat*, 26(8), 907-916.
- Chen, J. Y., et al. (2013). Dosage of Dyrk1a shifts cells within a p21-cyclin D1 signaling map to control the decision to enter the cell cycle. *Mol Cell*, 52, 87-100.
- Chiu, H. F., Venkatakrisnan, K., & Wang, C. K. (2020). The role of nutraceuticals as a complementary therapy against various neurodegenerative diseases: A mini-review. *J Tradit Complement Med*, 10(5), 434–439.
- Chowdhury, A., et al. (2016). Protective role of epigallocatechin-3-gallate in health and disease: A perspective. *Biomed Pharmacother*, 78, 50-59.
- Chu, C., et al. (2017). Green Tea Extracts Epigallocatechin-3-gallate for Different Treatments. *BioMed Res Int*, 5615647.
- ClinicalTrials.gov. (2019). Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). Identifier NCT03624556, Pediatric Exploratory Research Study of EGCG Use and Safety

(PERSEUS) (PERSEUS). Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03624556?term=EGCG&cond=Down+Syndrome&draw=2&rank=3> [Consultado em 21 de maio de 2021].

Contestabile, A., Magara, S., & Cancedda, L. (2017). The GABAergic Hypothesis for Cognitive Disabilities in Down Syndrome. *Front Cell Neurosci*, 11, 54.

Coppedè, F. (2016). Risk factors for Down syndrome. *Arch Toxicol*, 90, 2917-2929.

Costa, A. C. & Scott-McKean, J. J. (2013). Prospects for improving brain function in individuals with Down syndrome. *CNS Drugs*, 27, 679-702.

de la Torre, R. & Dierssen, M. (2012). Therapeutic approaches in the improvement of cognitive performance in Down syndrome: past, present, and future. *Prog Brain Res*, 197, 1-14.

de la Torre, R., et al. (2013). Epigallocatechin-3-gallate, a DYRK1A inhibitor, rescues cognitive deficits in Down syndrome mouse models and in humans. *Mol Nutr Food Res*, 58, 278-288.

de la Torre, R., et al. (2016). Safety and efficacy of cognitive training plus epigallocatechin-3-gallate in young adults with Down's syndrome (TESDAD): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Neurol*, 15(8), 801–810.

de San Martin, J. Z., et al. (2018). GABAergic over-inhibition, a promising hypothesis for cognitive deficits in Down syndrome. *Free Radic Biol Med*, 114, 33–39.

De Toma, I., et al. (2020). Re-establishment of the epigenetic state and rescue of kinome deregulation in Ts65Dn mice upon treatment with green tea extract and environmental enrichment. *Sci Rep*, 10, 16023.

Derry, P. J., et al. (2020). Revisiting the intersection of amyloid, pathologically modified tau and iron in Alzheimer's disease from a ferroptosis perspective. *Prog Neurobiol*, 184, 101716.

Di Meo, F., et al. (2020). Bioactive Polyphenols and Neuromodulation: Molecular Mechanisms in Neurodegeneration. *Int J Mol Sci*, 21(7), 2564.

Di Vona, C., et al. (2015). Chromatin-wide profiling of DYRK1A reveals a role as a gene-specific RNA polymerase II CTD kinase. *Mol Cell*, 57, 506-20.

Down's Syndrome Association. (2021). Our History | Downs Syndrome Association [Em linha]. Disponível em: <https://www.downs-syndrome.org.uk/about-dsa/our-history/> [Consultado em 2 de Fevereiro de 2021].

Duchon, A. & Herault, Y. (2016). DYRK1A, a Dosage-Sensitive Gene Involved in Neurodevelopmental Disorders, Is a Target for Drug Development in Down Syndrome. *Front Behav Neurosci*, 10.

Ettcheto, M., et al. (2019). Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) Improves Cognitive Deficits Aggravated by an Obesogenic Diet Through Modulation of Unfolded Protein Response in APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> Mice. *Mol Neurobiol*, 57(4), 1814-1827.

Farzaei, M. H., Rahimi, R., & Abdollahi, M. (2015). The role of dietary polyphenols in the management of inflammatory bowel disease. *Curr Pharm Biotechnol*, 16(3), 196–210.

Farzaei, M. H., et al. (2019). Role of green tea catechins in prevention of age-related cognitive decline: Pharmacological targets and clinical perspective. *J Cell Physiol*, 234(3), 2447-2459.

Feki, A., & Hibaoui, Y. (2018). DYRK1A Protein, A Promising Therapeutic Target to Improve Cognitive Deficits in Down Syndrome. *Brain Sci*, 8(10), 187.

Ferreira, N., Saraiva, M. J., & Almeida, M. R. (2012). Epigallocatechin-3-gallate as a potential therapeutic drug for TTR-related amyloidosis: "in vivo" evidence from FAP mice models. *PloS One*, 7(1), e29933.

FontDirect®. (2017). EGCG\*: INGREDIENTE FUNCIONAL DE FONTUP® - FontDirect [Em linha]. Disponível em: [http://fontdirect.com/wp-content/uploads/2017/05/FICHA-A4-FONTUP\\_ESPAN%CC%83OL\\_310317.pdf](http://fontdirect.com/wp-content/uploads/2017/05/FICHA-A4-FONTUP_ESPAN%CC%83OL_310317.pdf) [Consultado em 2 de junho de 2021].

FontDirect®. (n.d.). FontUp Capsules 10 UNITS [Em linha]. Disponível em: <https://www.fontdirect.com/en/tienda/fontup-capsules-10-units/> [Consultado em 2 de junho de 2021].

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2015). World tea production and trade - Current and future development. [Em linha]. Disponível em: <http://www.fao.org/3/i4480e/i4480e.pdf> [Consultado em 21 de dezembro de 2020].

- Gardiner, K. J. (2015). Pharmacological approaches to improving cognitive function in Down syndrome: current status and considerations. *Drug Des Devel Ther*, 9, 103-125.
- Gaspar, L. (2013). Trissomia 21-O ponto de vista do médico. [Em linha]. Disponível em: <http://www.apatris21.org/docs/general/a202.pdf> [Consultado em 2 de março de 2021].
- GeneCards – the human gene database. (2021). *DYRK1A* Gene. [Em linha]. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=DYRK1A> [Consultado em 26 de fevereiro de 2021].
- Global Down Syndrome Foundation. (2018). Down Syndrome Misconceptions vs. Reality. [Em linha]. Disponível em: <https://www.globaldownsyndrome.org/about-down-syndrome/misconceptions-vs-reality/> [Consultado em 14 de dezembro de 2020].
- Goodlett, C. R., et al. (2020). Evaluation of the therapeutic potential of Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) via oral gavage in young adult Down syndrome mice. *Sci Rep*, 10(1), 10426.
- Gu, Y., et al. (2020). Molecular Rescue of Dyrk1A Overexpression Alterations in Mice with Fontup(®) Dietary Supplement: Role of Green Tea Catechins. *Int J Mol Sci*, 21.
- Guedj, F., et al. (2009). Green tea polyphenols rescue of brain defects induced by overexpression of DYRK1A. *PloS One*, 4(2), e4606.
- Gruendler, R., et al. (2020). Nutraceutical Approaches of Autophagy and Neuroinflammation in Alzheimer's Disease: A Systematic Review. *Molecules*, 25(24), 6018.
- Hämmerle, B., et al. (2011). Transient expression of Mnb/Dyrk1a couples cell cycle exit and differentiation of neuronal precursors by inducing p27KIP1 expression and suppressing NOTCH signaling. *Development*, 138, 2543-2554.
- Hattori, M., et al. (2000). The DNA sequence of human chromosome 21. *Nature*, 405, 311-319.
- Head, E., et al. (2016). Aging in Down Syndrome and the Development of Alzheimer's Disease Neuropathology. *Curr Alzheimer Res*, 13, 18-29.
- Hefti, E., & Blanco, J. G. (2017). Pharmacotherapeutic Considerations for Individuals with Down Syndrome. *Pharmacotherapy*, 37(2), 214–220.

- Hodges, J. K., et al. (2019). Intestinal-level anti-inflammatory bioactivities of catechin-rich green tea: Rationale, design, and methods of a double-blind, randomized, placebo-controlled crossover trial in metabolic syndrome and healthy adults. *Contemp Clin Trials Commun*, 17, 100495.
- Huang, T., et al. (2013). The impact of maternal weight discrepancies on prenatal screening results for Down syndrome. *Prenat Diagn*, 33, 471-476.
- Jarhad, D. B., et al. (2018). Dual-Specificity Tyrosine Phosphorylation-Regulated Kinase 1A (DYRK1A) Inhibitors as Potential Therapeutics. *J Med Chem*, 61(22), 9791–9810.
- Kazemi, M., Salehi, M. & Kheirollahi, M. (2016). Down Syndrome: Current Status, Challenges and Future Perspectives. *Int J Mol Cell Med*, 5, 125-133.
- Khalatbary, A. R., & Khademi, E. (2020). The green tea polyphenolic catechin epigallocatechin gallate and neuroprotection. *Nutr Neurosci*, 23(4), 281-294.
- Koch, W. (2019). Dietary Polyphenols-Important Non-Nutrients in the Prevention of Chronic Noncommunicable Diseases. A Systematic Review. *Nutrients*, 11(5), 1039.
- Köhler, F.E. (1887). Köhlers Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen Abbildungen und kurz erläuterndem Texte. Köhler, Gera, Germany (1883-1914).
- Kim, H.-S., Quon, M. J., & Kim, J.-a. (2014). New insights into the mechanisms of polyphenols beyond antioxidant properties; lessons from the green tea polyphenol, epigallocatechin 3-gallate. *Redox Biol*, 2, 187-195.
- Kozma, C. (2007). O que é a síndrome de down? In: Stray-Gundersen, K. (Ed.). *Crianças com síndrome de Down: guia para os pais e educadores*. 2<sup>a</sup> ed. Porto Alegre, Artmed, pp.16-32.
- Kucera, O., et al. (2015). In vitro toxicity of epigallocatechin gallate in rat liver mitochondria and hepatocytes. *Oxid Med Cell Longev*, 476180.
- Lakshmi, S. P., et al. (2020). The tea catechin epigallocatechin gallate inhibits NF-κB-mediated transcriptional activation by covalent modification. *Arch Biochem Biophys*, 695, 108620.
- Landini, L., Rebelos, E., & Honka, M. J. (2020). Green tea from the far east to the drug store: focus on the cardiovascular beneficial effects. *Curr Pharm Des*, 27(16), 1931-1940.

- Li, R., et al. (2006). (-)-Epigallocatechin gallate regulates dopamine transporter internalization via protein kinase C-dependent pathway. *Brain Res*, 1097(1), 85–89.
- Li, Y., et al. (2019). Hippocampal deficits in neurodevelopmental disorders. *Neurobiol Learn Mem*, 165, 106945.
- Life Extension® Europe. (n.d.) Green tea [Em linha]. Disponível em: <https://www.lifeextensioneurope.com/anti-aging/green-tea> [Consultado em 27 de maio de 2021].
- Liu, H., et al. (2017). NFATc1 phosphorylation by DYRK1A increases its protein stability. *PLoS One*, 12, e0172985.
- Liu, X., et al. (2018). Influence of EGCG on  $\alpha$ -synuclein ( $\alpha$ S) aggregation and identification of their possible binding mode: A computational study using molecular dynamics simulation. *Chem Biol Drug Des*, 91(1), 162–171.
- Liu, Z., et al. (2020). Reciprocal Interactions between Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and Human Gut Microbiota In Vitro. *J Agric Food Chem*, 68(36), 9804–9815.
- Long, R., et al. (2019). Usage of and attitudes about green tea extract and Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) as a therapy in individuals with Down syndrome. *Complement Ther Med*, 45, 234-241.
- Manu, K. A., et al. (2019). p21cip1/waf1 Coordinate Autophagy, Proliferation and Apoptosis in Response to Metabolic Stress. *Cancers*, 11.
- Marquardt, K. C., & Watson, R. R. (2014). Chapter 2 - Polyphenols and Public Health. In: Watson, R. R., Preedy, V. R. & Zibadi, S. (Eds.). *Polyphenols in Human Health and Disease*. San Diego, Academic Press, pp. 9-15.
- Mateos, M. K., et al. (2015). Down syndrome and leukemia: insights into leukemogenesis and translational targets. *Transl Pediatr*, 4, 76-92.
- Mazurek, D. & Wyka, J. (2015). Down syndrome--genetic and nutritional aspects of accompanying disorders. *Rocz Panstw Zakl Hig*, 66, 189-194.
- McElyea, S. D., et al. (2016). Influence of prenatal EGCG treatment and Dyrk1a dosage reduction on craniofacial features associated with Down syndrome. *Hum Mol Genet*, 25, 4856-4869.

- Megarbane, A., et al. (2009). The 50<sup>th</sup> anniversary of the discovery of trisomy 21: the past, present, and future of research and treatment of Down syndrome. *Genet Med*, 11(9), 611-616.
- Mena, P., et al. (2019). Phenyl- $\gamma$ -valerolactones and phenylvaleric acids, the main colonic metabolites of flavan-3-ols: synthesis, analysis, bioavailability, and bioactivity. *Nat Prod Rep*, 36(5), 714-752.
- Menegazzi, M., et al. (2020). Protective Effect of Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) in Diseases with Uncontrolled Immune Activation: Could Such a Scenario Be Helpful to Counteract COVID-19?. *Int J Mol Sci*, 21(14), 5171.
- Mesoraca, A., et al. (2020). Cell-free DNA screening for aneuploidies in 7113 pregnancies: single Italian centre study. *Genet Res*, 102, e5.
- Moreau, M., et al. (2021). Metabolic Diseases and Down Syndrome: How Are They Linked Together?. *Biomedicines*, 9(2), 221.
- Moretto, E., et al. (2018). Glutamatergic synapses in neurodevelopmental disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 84(Pt B), 328–342.
- National Down Syndrome Congress. (2020). What is Down syndrome? [Em linha]. Disponível em: <https://www.ndscenter.org/programs-resources/what-is-down-syndrome/> [Consultado em 5 de fevereiro de 2021].
- National Down Syndrome Society. (2021). Down Syndrome Facts. [Em linha]. Disponível em: <https://www.ndss.org/about-down-syndrome/down-syndrome-facts/> [Consultado em 23 de fevereiro de 2021].
- National Human Genome Research Institute - Modified from [(Human Genome Project)]. (2013). Ideogram for Down syndrome by pseudo-dicentric Robertsonian translocation rob(14;21); Derivative versions from file Down syndrome translocation.png. Disponível em: [https://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Robertsonian\\_translocation\\_rob\(14;21\).png](https://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Robertsonian_translocation_rob(14;21).png). [Consultado em 19 de janeiro de 2021].
- Oliveira, M. R., et al. (2016). Epigallocatechin gallate and mitochondria-A story of life and death. *Pharmacol Res*, 104, 70-85.
- Ouyang, J., et al. (2020). Prooxidant Effects of Epigallocatechin-3-Gallate in Health Benefits and Potential Adverse Effect. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 9723686.

- Oz, H. S. (2017). Chronic Inflammatory Diseases and Green Tea Polyphenols. *Nutrients*, 9(6), 561.
- Park, J., et al. (2010). Dyrk1A phosphorylates p53 and inhibits proliferation of embryonic neuronal cells. *J Biol Chem*, 285, 31895-31906.
- Peiris, H. & Keating, D. J. (2018). The neuronal and endocrine roles of RCAN1 in health and disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 45, 377-383.
- Perluigi, M., et al. (2011). Oxidative stress occurs early in Down syndrome pregnancy: A redox proteomics analysis of amniotic fluid. *Proteomics Clin Appl*, 5(3-4), 167–178.
- Pervin, M., et al. (2018). Beneficial Effects of Green Tea Catechins on Neurodegenerative Diseases. *Molecules*, 23(6).
- Pervin, M., et al. (2019). Function of Green Tea Catechins in the Brain: Epigallocatechin Gallate and its Metabolites. *Int J Mol Sci*, 20(15).
- Polito, C. A., et al. (2018). Association of Tea Consumption with Risk of Alzheimer's Disease and Anti-Beta-Amyloid Effects of Tea. *Nutrients*, 10(5).
- Pomier, K. M., Ahmed, R., & Melacini, G. (2020). Catechins as Tools to Understand the Molecular Basis of Neurodegeneration. *Molecules*, 25(16), 3571.
- Prasanth, M. I., et al. (2019). A Review of the Role of Green Tea (*Camellia sinensis*) in Antiphotaging, Stress Resistance, Neuroprotection, and Autophagy. *Nutrients*, 11(2), 474.
- Prozis. (2021). Chá Verde EGCG 600mg 100 cápsulas [Em linha]. Disponível em: <https://www.prozis.com/pt/pt/prozis/cha-verde-egcg-600mg-100-capsulas> [Consultado em 27 de maio de 2021].
- Reddy, A. T., et al. (2020). Epigallocatechin gallate suppresses inflammation in human coronary artery endothelial cells by inhibiting NF- $\kappa$ B. *Life Sci*, 258, 118136.
- Reygaert, W. C. (2018). Green Tea Catechins: Their Use in Treating and Preventing Infectious Diseases. *Biomed Res Int*, 2018, 9105261.
- Ribeiro, J. L. & Silva, P. d. L. (2017). Família do deficiente intelectual: Reflexões acerca do sofrimento familiar e do trabalho do psicólogo. [Em linha]. Disponível em: <https://www.psicologia.pt/artigos/textos/TL0413.pdf> [Consultado em 13 de fevereiro de 2021].

- Rodrigo, R., & Gil-Becerra, D. (2014). Chapter 17 - Implications of Polyphenols on Endogenous Antioxidant Defense Systems in Human Diseases. *In: Watson, R. R., Preedy, V. R. & Zibadi, S. (Eds.). Polyphenols in Human Health and Disease*. San Diego, Academic Press, pp. 201-217.
- Rondal, J. A. (2021). From the lab to the people: major challenges in the biological treatment of Down syndrome. *AIMS Neurosci*, 8(2), 284–294.
- Rueda, N., Flórez, J., & Martínez-Cué, C. (2012). Mouse models of Down syndrome as a tool to unravel the causes of mental disabilities. *Neural Plast*, 2012, 584071.
- Satgé, D., & Seidel, M. G. (2018). The Pattern of Malignancies in Down Syndrome and Its Potential Context With the Immune System. *Front Immunol*, 9, 3058.
- Serino, A., & Salazar, G. (2018). Protective Role of Polyphenols against Vascular Inflammation, Aging and Cardiovascular Disease. *Nutrients*, 11(1), 53.
- Sharma, R. (2014). Chapter 59 - Polyphenols in Health and Disease: Practice and Mechanisms of Benefits. *In: Watson, R. R., Preedy, V. R. & Zibadi, S. (Eds.). Polyphenols in Human Health and Disease*. San Diego, Academic Press, pp. 757-778.
- Shen, C. H. (2019). Chapter 13 - Molecular Diagnosis of Chromosomal Disorders. *In: Shen, C. H. (Ed.). Diagnostic Molecular Biology*. San Diego, Academic Press, pp. 331-358).
- Shen, C.-L., et al. (2014). Chapter 52 - Green Tea and other Fruit Polyphenols Attenuate Deterioration of Bone Microarchitecture. *In: Watson, R. R., Preedy, V. R. & Zibadi, S. (Eds.). Polyphenols in Human Health and Disease*. San Diego, Academic Press, pp. 681-693.
- Shi, W., et al. (2018). The critical role of epigallocatechin gallate in regulating mitochondrial metabolism. *Future Med Chem*, 10, 795-809.
- Shirakami, Y., et al. (2016). Catechins and Its Role in Chronic Diseases. *Adv Exp Med Biol*, 929, 67–90.
- Simons Foundation. (2020). DYRK1A-Related Syndrome [Em linha]. Disponível em: [https://cdn.simonssearchlight.org/wp-content/uploads/2020/08/06121712/DYRK1A-brochure\\_Jan2020\\_final.pdf](https://cdn.simonssearchlight.org/wp-content/uploads/2020/08/06121712/DYRK1A-brochure_Jan2020_final.pdf) [Consultado em 16 de março de 2021].

- Singh, A., et al. (2020). Promising Polyphenols in Parkinson's Disease Therapeutics. *Neurochem Res*, 45(8), 1731–1745.
- Singh, N. A., Mandal, A. K., & Khan, Z. A. (2016). Potential neuroprotective properties of epigallocatechin-3-gallate (EGCG). *Nutr J*, 15(1), 60.
- Souchet, B., et al. (2019). Prenatal treatment with EGCG enriched green tea extract rescues GAD67 related developmental and cognitive defects in Down syndrome mouse models. *Sci Rep*, 9(1), 3914.
- Spotorno, N., et al. (2020). Relationship between cortical iron and tau aggregation in Alzheimer's disease. *Brain*, 143(5), 1341–1349.
- Stagni, F., et al. (2015). Timing of therapies for Down syndrome: the sooner, the better. *Front Behav Neurosci*, 9, 265.
- Stagni, F., et al. (2016). Short- and long-term effects of neonatal pharmacotherapy with epigallocatechin-3-gallate on hippocampal development in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Neuroscience*, 333, 277-301.
- Stagni, F., et al. (2017). Epigallocatechin gallate: A useful therapy for cognitive disability in Down syndrome? *Neurogenesis*, 4(1), e1270383.
- Stagni, F., et al. (2018). Neurogenesis impairment: An early developmental defect in Down syndrome. *Free Radic Biol Med*, 114, 15–32.
- Stringer M., et al. (2015). Low dose EGCG treatment beginning in adolescence does not improve cognitive impairment in a Down syndrome mouse model. *Pharmacol Biochem Behav*, 138, 70-79.
- Stringer, M., et al. (2017a). Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) consumption in the Ts65Dn model of Down syndrome fails to improve behavioral deficits and is detrimental to skeletal phenotypes. *Physiol Behav*, 177, 230-241.
- Stringer, M., Goodlett, C. R. & Roper, R. J. (2017b). Targeting trisomic treatments: optimizing Dyrk1a inhibition to improve Down syndrome deficits. *Mol Genet Genomic Med*, 5, 451-465.
- Sturgeon, X., et al. (2012). Pathways to cognitive deficits in Down syndrome. *Prog Brain Res*, 197, 73-100.

- Tomasmyspecialbaby. (2016). [Em linha]. Disponível em: <http://www.tomasmyspecialbaby.com/search/label/trissomia21#.YClézGj7TIU> [Consultado em 14 de dezembro de 2020].
- Vacca, R. A. & Valenti, D. (2015). Green tea EGCG plus fish oil omega-3 dietary supplements rescue mitochondrial dysfunctions and are safe in a Down's syndrome child. *Clin Nutr*, 34, 783-784.
- Vacca, R. A., et al. (2016). Plant polyphenols as natural drugs for the management of Down syndrome and related disorders. *Neurosci Biobehav Rev*, 71, 865-877.
- Vacca, R. A., et al. (2019). Down syndrome: Neurobiological alterations and therapeutic targets. *Neurosci Biobehav Rev*, 98, 234-255.
- Valenti, D., et al. (2013). Epigallocatechin-3-gallate prevents oxidative phosphorylation deficit and promotes mitochondrial biogenesis in human cells from subjects with Down's syndrome. *Biochim Biophys Acta*, 1832, 542-552.
- Valenti, D., et al. (2016). The polyphenols resveratrol and epigallocatechin-3-gallate restore the severe impairment of mitochondria in hippocampal progenitor cells from a Down syndrome mouse model. *Biochim Biophys Acta*, 1862(6), 1093-1104.
- Valenti, D., et al. (2018). Mitochondria as pharmacological targets in Down syndrome. *Free Radic Biol Med*, 114, 69-83.
- Valentini, D., et al. (2021). Medical conditions of children and young people with Down syndrome. *J Intellect Disabil Res*, 65(2), 199–209.
- Vatner, S. F., et al. (2020). Healthful aging mediated by inhibition of oxidative stress. *Ageing Res Rev*, 64, 101194.
- Xavier, J. M., Rodrigues, C. M. P. & Solá, S. (2015). Mitochondria: Major Regulators of Neural Development. *Neuroscientist*, 22, 346-358.
- Xicota, L., et al. (2017). Potential Role of (-)-Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) in the Secondary Prevention of Alzheimer Disease. *Curr Drug Targets*, 18(2), 174–195.
- Xing, L., et al. (2019). Recent Advances in the Understanding of the Health Benefits and Molecular Mechanisms Associated with Green Tea Polyphenols. *J Agric Food Chem*, 67(4), 1029-1043.

- Xu, Q., et al. (2017). Epigallocatechin Gallate Has a Neurorescue Effect in a Mouse Model of Parkinson Disease. *J Nutr*, 147(10), 1926-1931.
- Xu, X. Y., et al. (2020). Effects and mechanisms of tea for the prevention and management of cancers: An updated review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 60(10), 1693–1705.
- Yabut, O., Domogauer, J. & D'arcangelo, G. (2010). Dyrk1A overexpression inhibits proliferation and induces premature neuronal differentiation of neural progenitor cells. *J Neurosci*, 30, 4004-4014.
- Yan, N., & Zhang, J. (2020). Iron Metabolism, Ferroptosis, and the Links With Alzheimer's Disease. *Front Neurosci*, 13, 1443.
- Yang, Q. Q., et al. (2020). Nanochemoprevention with therapeutic benefits: An updated review focused on epigallocatechin gallate delivery. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 60(8), 1243-1264.
- Walter, E. & Odin, P. (2015). Cost-effectiveness of continuous subcutaneous apomorphine in the treatment of Parkinsons disease in the UK and Germany. *J Med Econ*, 18, 155–165.
- Wiseman, F. K., et al. (2009). Down syndrome--recent progress and future prospects. *Hum Mol Genet*, 18(R1), R75–R83.
- World Health Organization Regional Office for Europe. (2021). Births with Down's syndrome per 100 000 live births. European Health for All explorer. [Em linha]. [Consultado em 2 de fevereiro de 2021].
- Wyganowska-Świątkowska, M., et al. (2018). Can EGCG Alleviate Symptoms of Down Syndrome by Altering Proteolytic Activity? *Int J Mol Sci*, 19.
- Zanwar, A. A., et al. (2014). Chapter 21 - Antioxidant Role of Catechin in Health and Disease. In: Watson, R. R., Preedy, V. R. & Zibadi, S. (Eds.). *Polyphenols in Human Health and Disease*. San Diego, Academic Press, pp. 267-271.
- Zhang, S., et al. (2020). The pharmacological activity of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on Alzheimer's disease animal model: A systematic review. *Phytomedicine*, 79, 153316.

Zhang, Y., et al. (2021). EGCG Promotes Neurite Outgrowth through the Integrin  $\beta$ 1/FAK/p38 Signaling Pathway after Subarachnoid Hemorrhage. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 8810414.

Zhao, J., et al. (2017). Metal chelator EGCG attenuates Fe(III)-induced conformational transition of  $\alpha$ -synuclein and protects AS-PC12 cells against Fe(III)-induced death. *J Neurochem*, 143(1), 136–146.

Zis, P. & Strydom, A. (2018). Clinical aspects and biomarkers of Alzheimer's disease in Down syndrome. *Free Radic Biol Med*, 114, 3-9.

Zumub. (2021). Chá Verde [Em linha]. Disponível em: <https://www.zumub.com/PT/cha-verde?egcg-400mg-90=> [Consultado em 27 de maio de 2021].