

Ana Sofia Castro Costa

Efeitos dos suplementos alimentares no *stress* oxidativo,
inflamação e fisiopatologia



Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2021

Efeitos dos suplementos alimentares no *stress* oxidativo, inflamação e fisiopatologia

Ana Sofia Castro Costa

Efeitos dos suplementos alimentares no *stress* oxidativo,
inflamação e fisiopatologia

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2021

Aluna:

Ana Sofia Castro Costa

.....

Orientadora: Prof^a Doutora Raquel Silva

Coorientadora: Prof^a Doutora Fernanda Leal

Título da Dissertação:

Efeitos dos suplementos alimentares no *stress* oxidativo, inflamação e fisiopatologia

Dissertação de Mestrado apresentada à Universidade
Fernando Pessoa como parte dos requisitos
para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Sumário

A vida moderna, frequentemente associada a elevados níveis de *stress* e a uma alimentação desequilibrada, conduz a um aumento da produção de espécies reativas e, conseqüentemente, ao *stress* oxidativo. Em níveis moderados, o aumento de *stress* oxidativo pode ter efeitos benéficos para o organismo e permite a ativação da via antioxidante NRF2 e inibição da via pró-inflamatória NF-kB, garantindo uma resposta antioxidante e citoprotetora. Porém, em situações de elevado *stress* oxidativo a via NF-kB é ativada, ocorrendo a produção de diversos mediadores inflamatórios. Por outro lado, os fatores ambientais aos quais estamos expostos diariamente, podem induzir alterações epigenéticas, as quais intervêm na regulação da expressão dos fatores de transcrição NRF2 e NF-kB, ocorrendo uma alteração da capacidade antioxidante celular.

Tem-se verificado que a ativação excessiva da via NF-kB e a inibição da via NRF2 estão envolvidas em variadas patologias crônicas, nas quais o *stress* oxidativo e a inflamação de baixo grau se encontram presentes. Assim, o objetivo deste trabalho foi explorar o uso de suplementos alimentares, capazes de modular estas vias, na prevenção e/ou controlo de algumas destas patologias. Para tal, realizou-se uma revisão bibliográfica do tema entre 2009 e 2021, recorrendo às bases de pesquisa científica *PubMed* e *Google Académico*.

Por fim, importa mencionar que, na farmácia comunitária, o farmacêutico, constitui uma peça chave no que se refere ao aconselhamento e dispensa de suplementos alimentares, uma vez que estes, tal como os medicamentos de prescrição, não se encontram isentos de riscos, cabendo ao farmacêutico informar os utentes dos mesmos.

Palavras-chave: suplementos alimentares, *stress* oxidativo, inflamação, doenças crônicas, via NRF2, via NF-kB, antioxidantes.

Abstract

Modern life, often associated with high levels of stress and an unbalanced diet, enhances the production of reactive species and, consequently, leads to oxidative stress. At moderate levels, the increase in oxidative stress may have a positive impact in the body and allow the activation of NRF2 antioxidant pathway and the inhibition of NF-kB pro-inflammatory pathway, ensuring antioxidant and cytoprotective responses. However, in situations of high oxidative stress the NF-kB pathway is activated, occurring the production of several inflammatory mediators. On the other hand, the environmental factors to which we are exposed daily, can induce epigenetic modifications, which intervene in the regulation of the NRF2 and NF-kB transcription factors expression, occurring a change in the antioxidant capacity of the cells.

It has been verified that the excessive activation of NF-kB pathway and the inhibition of NRF2 pathway are involved in several chronic pathologies, in which oxidative stress and low-grade inflammation are present. Thus, the aim of this work was to explore the use of food supplements, capable of modulating these pathways, in the prevention and/or control of some of these pathologies. In this way, a literature review of the theme between the years 2009 and 2021 was carried out, using the scientific research bases PubMed and Google Scholar.

Finally, it is worth mentioning that, in the community pharmacy, the pharmacist is a key player in counselling and dispensing food supplements, because these products, like prescription drugs, are not risk-free and it is up to the pharmacist to provide information about them.

Keywords: dietary supplements, oxidative stress, inflammation, chronic diseases, NRF2 pathway, NF-kB pathway, antioxidants.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todos os que de alguma forma me auxiliaram a cumprir o meu objetivo académico de há vários anos: tornar-me Mestre em Ciências Farmacêuticas. Embora possa eventualmente me esquecer de referir alguém, gostaria de agradecer a: Prof. Fátima Castro e Carlos Costa (os meus pais), Diogo Santos, Adriana Santos, Jaime Santos, José Fadista, David Masip Diaz, Josefa Diaz, Adélio Masip, Betty S., Daniel Teixeira, João Chaves, tio Dinis Castro, tia Cristina Castro, prima Mariana Castro, tia Isabel Castro, tia Dária Castro, tia Graça Gonçalves, Isabel Pestana, Conceição Gomes, Dra. Joana Rui Videira, Dra. Sandra Falcão, Dra. Telma Ribeiro, Dra. Mónica Moreno, Dra. Teresa Carneiro, Prof. Dr. Pedro Barata, Dra. Márcia Leite, Dra. Marta Pereira, Dr. José Rivas, Dra. Ana Maria Quintana, Dr. Miguel Silva, Dr. Vitor Gomes e Dona Laurinda Rei.

Agradeço muito também às minhas duas orientadoras, a Prof. Dra. Raquel Silva e a Prof. Dra. Fernanda Leal, pela paciência, compreensão e dedicação que permitiram a conclusão com sucesso deste projeto.

Por último, envio um abraço de forte agradecimento à Dra. Patrícia Alves, ao Sr. Afonso (College Work), à equipa da pastelaria/restaurante Sabores da Invicta e à equipa do Impar Studios Porto.

A todos vocês, que me auxiliaram nesta caminhada, o meu muitíssimo obrigado.

Índice Geral

Índice de Figuras.....	x
Índice de Tabelas	xii
Lista de abreviaturas	xiii
Introdução.....	1
I. Suplementos alimentares.....	5
1.1. Definição.....	5
1.2. Regulamentação e controlo	5
1.3. Composição e classificação.....	6
1.4. Relação entre suplementos alimentares e medicamentos – enquadramento legal .	7
1.5. Consumo de suplementos alimentares e Medicina Proativa.....	8
1.6. Distinção de conceitos: nutracêutico vs suplemento alimentar.....	9
II. <i>Stress</i> oxidativo	12
2.1. Principais espécies oxidantes e sua formação	15
2.2. <i>Stress</i> oxidativo e inflamação.....	17
2.3. <i>Stress</i> emocional e inflamação crónica.....	19
2.4. <i>Stress</i> oxidativo, alimentação e inflamação crónica	23
2.5. Regulação epigenética e doenças crónicas.....	26
2.6. <i>Stress</i> oxidativo, síndrome metabólica e doenças crónicas	29
2.7. <i>Stress</i> oxidativo, inflamação e cancro	30
2.8. <i>Stress</i> oxidativo e doenças neurodegenerativas	32
III. Espécies antioxidantes.....	34
3.1. Regulação do sistema antioxidante celular	34
i. Via NRF2-ARE	34
ii. Via NF-kB	36
iii. Interação entre as vias NRF2 e NF-kB	37

iv. Potencial terapêutico das vias NRF2 e NF-kB na fisiopatologia de doenças crônicas	39
3.2. Suplementos que ativam a via NRF2 e que suprimem a via NF-kB	42
i. Curcumina	43
ii. Sulforofano	43
iii. Resveratrol	44
iv. Epigallocatequina-3-galato	45
v. Coenzima Q10	45
vi. Melatonina	48
vii. N-acetilcisteína	48
viii. Zinco	49
ix. Vitamina D	51
x. Probióticos	53
Conclusão	57
Bibliografia	58

Índice de Figuras

Figura 1. Esquema representativo do conceito de Medicina proativa (adaptada de Santini et al., 2017).....	8
Figura 2. Esquema-resumo da distinção entre alimento, alimento funcional e suplemento alimentar/nutracêutico.....	11
Figura 3. Desequilíbrio redox intracelular e ocorrência de <i>stress</i> oxidativo (adaptada de Poljsak et al., 2013).....	12
Figura 4. Diferentes efeitos do redox fisiológico, do ligeiro aumento de redox e do <i>stress</i> oxidativo a nível celular. Papel da sinalização redox em diversos processos celulares e do <i>stress</i> oxidativo no desenvolvimento de doenças (adaptada de Sies & Jones, 2020 e Zhang et al., 2019).....	14
Figura 5. Principais reações de formação de ROS e RNS e danos oxidativos consequentes.	17
Figura 6. Causas da produção de ROS, alvos celulares e possíveis consequências associadas (adaptado de Ferreira et al., 2009).....	18
Figura 7. Influência do <i>stress</i> emocional na ativação do eixo HPA e consequente endotoxemia e inflamação (adaptada de de Punder & Pruijboom, 2015).....	20
Figura 8. Desacoplamento mitocondrial e produção de ROS (adaptada de Demine et al., 2019).	24
Figura 9. Influência da dieta rica em ácidos gordos saturados (AGS) e triglicéridos no <i>stress</i> oxidativo, na inflamação e na disfunção mitocondrial (adaptada de Samodien et al., 2019).	26
Figura 10. Interação entre fatores ambientais, epigenética, processos fisiológicos e o desenvolvimento de doenças (adaptada de Remely et al., 2015).	27
Figura 11. Papel do <i>stress</i> oxidativo e da inflamação crónica no desenvolvimento de mutações (adaptada de Ferguson, 2010).	31
Figura 12. Exemplos de espécies oxidantes e antioxidantes (enzimáticas e não enzimáticas) envolvidas no equilíbrio redox.....	34
Figura 13. Ativação da via NRF2 e principais efeitos (adaptada de Ohl et al., 2016)....	35
Figura 14. Ativação da via NF-kB e principais efeitos (adaptada de Sivandzade et al., 2019).	37
Figura 15. Ativação da via NRF2 ou da via NF-kB consoante o nível de <i>stress</i> oxidativo.	38

Figura 16. Interação entre as vias NRF2 e NF- κ B (adaptada de Ganesh Yerra et al., 2013).	38
Figura 17. <i>Stress</i> oxidativo, inflamação crónica de baixo grau e diversos processos envolvidos na fisiopatologia de algumas doenças crónicas.	40
Figura 18. Papel protetor do fator de transcrição NRF2 em diversas doenças crónicas (adaptada de Cuadrado et al., 2018).....	41
Figura 19. Exemplos de suplementos alimentares moduladores das vias NRF2 e NF- κ B.	42
Figura 20. Propriedades da CoQ10 e potencial terapêutico em doenças crónicas associadas ao <i>stress</i> oxidativo (adaptada de Gutierrez-Mariscal et al., 2020).	46
Figura 21. Mecanismos antioxidantes do zinco (adaptada de Olechnowicz et al., 2018).	50
Figura 22. Principais causas da disbiose intestinal, possíveis consequências e patologias desenvolvidas (adaptada de Cuevas-Sierra et al., 2019).	54
Figura 23. Desenvolvimento de aterosclerose na sequência de alterações da microbiota intestinal (adaptada de Kirichenko et al., 2020).	55
Figura 24. Efeitos antioxidantes dos probióticos (adaptada de Feng & Wang, 2020)....	56

Índice de Tabelas

Tabela 1. Pesquisa e seleção de referências bibliográficas - <i>PubMed</i>	3
Tabela 2. Pesquisa e seleção de referências bibliográficas - Google Académico.	4
Tabela 3. Classificação e exemplos de suplementos alimentares.....	6
Tabela 4. Quadro-resumo da legislação aplicável e objetivos dos suplementos alimentares e dos medicamentos.	7
Tabela 5. Efeitos da suplementação com CoQ10 em alguns parâmetros relacionados com a fibromialgia (adaptada de Cordero et al., 2012).	47

Lista de abreviaturas

3-NT	3-Nitrotirosina
4-HNE	4-Hidroxinonal
8-OHdG	8-oxo-2'-desoxiguanosina
AGS	Ácidos gordos saturados
ARE	Elemento de resposta antioxidante, do inglês <i>antioxidant response element</i>
ASAE	Autoridade de Segurança Alimentar e Económica
ATP	Adenosina trifosfato
BMCs	Células da medula óssea, do inglês <i>bone marrow cells</i>
CAT	Catalase
CBP	Proteína de ligação à proteína de ligação ao elemento de resposta à adenosina monofosfato cíclica, do inglês <i>cyclic adenosine monophosphate-response element binding protein-binding protein</i>
CoQ10	Coenzima Q10
COVID-19	Doença por coronavírus 2019, do inglês <i>coronavirus disease 2019</i>
COX	Cicloxygenase
DA	Doença de Alzheimer
DGAV	Direção Geral de Alimentação e Veterinária
DHA	Ácido docosa-hexaenóico, do inglês <i>docosahexaenoic acid</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico, do inglês <i>deoxyribonucleic acid</i>
DP	Doença de Parkinson
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crónica
EBV	Vírus Epstein-Barr, do inglês <i>Epstein-Barr virus</i>
EGCG	Epigallocatequina-3-galato
eNOS	Óxido nítrico sintetase endotelial
EPA	Ácido eicosapentaenóico, do inglês <i>eicosapentaenoic acid</i>
Fe ²⁺	Ferro ferroso
FIQ	Questionário de Impacto da Fibromialgia
FUFOSE	Ciência dos Alimentos Funcionais na Europa, do inglês <i>Functional Food Science in Europe</i>

GLA	Ácido gama-linolénico, do inglês <i>gama-linolenic acid</i>
GMPc	Guanosina monofosfato cíclica
GPx	Glutationa peroxidase
GR	Glutationa redutase
GST	Glutationa S-transferase
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogénio
HClO	Ácido hipocloroso
HDAC3	Histona desacetilase 3
HDL	Lipoproteínas de alta densidade, do inglês <i>high-density lipoproteins</i>
HO [•]	Radical hidroxilo
HO-1	Heme oxigenase-1
HPA	Eixo hipotálamo-pituitária-adrenais
IADSA	Aliança Internacional de Associações de Suplementos Alimentares, do inglês <i>International Alliance of Dietary/Food Supplement Associations</i>
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular-1, do inglês <i>intercellular adhesion molecule1</i>
IgG	Imunoglobulinas G
IκBα	Proteína inibidora do NF-κB, do inglês <i>inhibitor of NF-κB</i>
IKK	IκBα cinase, do inglês <i>IκBα kinase</i>
IL	Interleucina
INFARMED	Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde
iNOS	Óxido nítrico sintetase induzível
Keap1	Proteína 1 associada à ECH do tipo <i>Kelch</i> , do inglês <i>Kelch Like ECH associated protein 1</i>
LDL-c	Colesterol das lipoproteínas de baixa densidade, do inglês <i>Low-density lipoproteins cholesterol</i>
LES	Lúpus eritematoso sistémico
LPS	Lipopolissacarídeos
MAF	Proteína do fibrosarcoma musculoaponeurótico, do inglês <i>musculoaponeurotic fibrossarcoma protein</i>
miRNAs	MicroRNAs não codificantes

MDA	Malondialdeído
MitoQ	Mitoquinona
MPO	Mieloperoxidase
NAC	N-acetilcisteína
NF-kB	Fator nuclear kappa B, do inglês <i>nuclear factor kappa B</i>
NO	Óxido nítrico
NOAEL	Nível sem efeitos adversos observáveis, do inglês <i>no observed adverse effect level</i>
NOS	Óxido nítrico sintetase, do inglês <i>nitric oxide synthetase</i>
NOX	NADPH oxidase
NQO1	NAD(P)H quinona oxidoreductase 1
NRF2	Fator nuclear 2 relacionado ao eritroide 2, do inglês <i>nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i>
O ₂	Oxigénio
O ₂ ^{-•}	Radical superóxido
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONOO ⁻	Anião peroxinitrito
PGC1a	Co-ativador-1α do recetor ativado pelo proliferador do peroxissoma, do inglês <i>peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha</i>
PGE2	Prostaglandina E2
RNA	Ácido ribonucleico, do inglês <i>ribonucleic acid</i>
RNS	Espécies reativas de azoto, do inglês <i>reactive nitrogen species</i>
ROS	Espécies reativas de oxigénio, do inglês <i>reactive oxygen species</i>
RSS	Espécies reativas de enxofre, do inglês <i>reactive sulfur species</i>
SA	Suplementos alimentares
SARS-CoV-2	Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2, do inglês <i>severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</i>
SCFA	Ácidos gordos de cadeia curta, do inglês <i>short chain fatty acids</i>
SFC/EM	Síndrome de fadiga crónica/encefalomielite miálgica
Sirt1	Sirtuína 1
SKQ1	Visomitina

SNS	Sistema nervoso simpático
SOD	Superóxido dismutase
TR	Tioredoxina redutase
TMAO	N-óxido de trimetilamina, do inglês <i>trimethylamine N-oxide</i>
TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa, do inglês <i>tumor necrosis factor-α</i>
TPx	Tioredoxina peroxidase
UE	União Europeia
UI	Unidades Internacionais
VCAM-1	Molécula de adesão celular vascular 1, do inglês <i>vascular cell adhesion molecule 1</i>
Vit. E	Vitamina E
Vit. C	Vitamina C

Introdução

Os hábitos alimentares encontram-se desde sempre ligados ao contexto social, cultural e religioso das sociedades, pelo que a existência de padrões nutricionais se prende com a necessidade da obtenção de uma alimentação equilibrada, que permita suprir todas as carências nutricionais do organismo.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a saúde é um estado de completo bem-estar mental, físico e social, não se limitando, portanto, à mera ausência de enfermidade (OMS, 2006). Desta forma, podemos inferir também que uma alimentação equilibrada constitui um fator crucial para que se atinja esse bem-estar, sendo essencial para a homeostasia do corpo humano.

Apesar da importância indiscutível de uma alimentação adequada, com o ritmo de vida atual (poluição, stress, falta de tempo) verifica-se muitas vezes a impossibilidade de se obter os níveis adequados de certos nutrientes, o que compromete o funcionamento saudável do organismo e poderá no futuro traduzir-se no desenvolvimento de doenças (Egger & Dixon, 2014).

A palavra suplemento significa, de acordo com o dicionário, “o que se junta a alguma coisa para o completar”; “adição, complemento, aditamento” (Dicionário Priberam da Língua Portuguesa, 2020). De facto, o surgimento dos suplementos alimentares (SA) veio colmatar as falhas nutricionais na sociedade moderna, permitindo aos consumidores complementarem a sua alimentação com os nutrientes de que necessitam. Os fatores estéticos e desportivos também se encontram entre os motivos que levam a população a procurar este tipo de produtos. Assim, embora os SA não sejam considerados indispensáveis para a alimentação do ser humano, verifica-se que podem desempenhar um papel importante a nível fisiológico, nomeadamente no que se refere à prevenção de doenças, promoção do bem-estar e melhoria do desempenho físico e cognitivo (Sirico et al., 2018).

Nos últimos anos, tem sido possível constatar uma preocupação crescente (Lentjes, 2019) por parte das pessoas no que se refere ao impacto da alimentação na saúde, o que motivou uma maior procura dos SA a nível global e um aumento considerável do mercado deste tipo de produtos.

Assim, a indústria, sempre atenta às necessidades dos seus consumidores e aos produtos mais procurados por estes, tem desenvolvido uma gama cada vez mais ampla de suplementos, sendo que a informação sobre estes nem sempre chega à população através

das fontes mais credíveis, o que poderá representar um risco sério para a saúde humana, devido à falta de informação ou informação incorreta dos consumidores (Schmitz Sm Md et al., 2020).

Ora, o aumento da procura de SA justifica uma adequada capacitação por parte dos profissionais de saúde, nomeadamente os farmacêuticos, na farmácia comunitária. De facto, uma vez que estes produtos podem ser adquiridos sem prescrição, mas não estão isentos da possibilidade de reações adversas ou de interações (Ronis et al., 2018), cabe ao farmacêutico aconselhar e indicar o suplemento adequado para cada utente, de acordo com as necessidades do mesmo.

O farmacêutico constitui, assim, uma peça-chave, no que se refere à educação e aconselhamento da população relativamente aos SA. Este profissional de saúde, com uma formação científica sólida e em atualização permanente, pode informar os utentes sobre o suplemento mais indicado em cada caso, tendo sempre em conta o perfil de segurança, qualidade e eficácia. Deve também alertar o consumidor para potenciais reações adversas que possam ocorrer, assim como possíveis interações com outros suplementos, medicamentos ou mesmo alimentos que sejam ingeridos em simultâneo. É igualmente de referir a importância de legislação adequada que regule o mercado deste tipo de produtos, sendo este um ponto fundamental para que se consiga um perfil de segurança do produto e uma melhor relação benefício-risco (Santini et al., 2018).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a utilidade dos SA, nomeadamente aqueles capazes de atuar através da ativação da via do fator nuclear 2 relacionado ao eritroide 2 (NRF2) e/ou supressão da via do fator nuclear kappa B (NF-kB), na prevenção e controlo de algumas patologias crónicas, nas quais o *stress* oxidativo e a inflamação se encontram presentes. Desta forma, realizou-se uma revisão bibliográfica do tema entre 2009 e 2021, com recurso às bases de pesquisa científica *PubMed* e *Google Académico* (Tabelas 1 e 2).

Foi também aprofundada a pesquisa de informação científica em sítios de organismos de referência, como o da Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde (INFARMED), Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), Associação Nacional de Farmácias, *European Food Safety Authority*, *International Alliance of Dietary/Food Supplement Associations* (IADSA), *Food Supplements Europe*, *European Nutraceutical Association*, *European Public Health Nutrition Alliance*, *Food and Drug Administration*, entre outros.

Durante o estágio curricular em Farmácia comunitária pôde-se contactar com variados tipos de SA, assim como foi possível aprofundar o conhecimento sobre os mesmos através do sistema informático Sifarma 2000.

Os critérios usados na seleção dos artigos científicos incluíram o interesse para o tema, sendo que a pesquisa foi limitada a estudos e artigos escritos em Inglês, Português e Espanhol, com data de publicação entre 2009 e 2021. Desta forma, o material foi selecionado de acordo com a relevância do seu conteúdo e também de acordo com as evidências experimentais relacionadas com o tema, tendo-se obtido desta forma a informação e os dados que conduziram à escrita da presente tese.

Tabela 1. Pesquisa e seleção de referências bibliográficas - *PubMed*.

Palavras-chave	<i>PubMed</i>		
	Referências Encontradas	Referências Excluídas*	Referências Selecionadas
“dietary supplements” AND “oxidative stress” AND “inflammation” AND “nutritional supplements”	1154	1119	35
“oxidative stress” AND “inflammation” AND “chronic diseases” AND “stress” AND “diet”	710	667	43
NRF2 AND NF-kB AND “therapeutic targets” AND “oxidative stress”	84	77	7
NF-kB AND “oxidative stress” AND “chronic inflammatory diseases”	333	329	4
NRF2 AND “nutritional antioxidants”	860	820	40

Tabela 2. Pesquisa e seleção de referências bibliográficas - Google Académico.

Palavras-chave	Google Académico		
	Referências Encontradas	Referências Excluídas*	Referências Seleccionadas
“dietary supplements” AND “oxidative stress” AND “inflammation” AND “nutritional supplements” AND “chronic diseases” AND NRF2 AND NF-kB AND “nutraceuticals”	1290	1189	101

*Artigos escritos em língua que não inglês, português e espanhol, repetidos ou sem relevância para o tema.

I. Suplementos alimentares

1.1. Definição

Os SA são considerados géneros alimentícios que constituem fontes concentradas de determinados nutrientes ou de outras substâncias com efeito nutricional ou fisiológico, administradas isoladas ou em combinação, destinando-se a complementar e/ou suplementar a alimentação. Podem ser usados na correção de falhas nutricionais ou na manutenção de uma ingestão adequada de certos nutrientes. São comercializados de modo doseado, através de diversas formas de apresentação, como cápsulas, comprimidos, pastilhas, ampolas de líquido, saquetas de pó, frascos com conta-gotas e outras formas similares de pós ou líquidos, as quais se destinam a ser tomadas em unidades medidas de pequena quantidade. Assim, os SA devem ser consumidos de acordo com uma dose máxima recomendada, a qual se encontra indicada na embalagem, não podendo ser vistos como substitutos de uma alimentação equilibrada (Diretiva 2002/46/CE).

Desta forma, embora os SA possam apresentar um efeito benéfico, não são considerados medicamentos, apesar de frequentemente serem comercializados nas mesmas formas farmacêuticas destes. Assim, a rotulagem e a publicidade aos SA não podem mencionar propriedades de prevenção, tratamento ou cura de doenças ou dos seus sintomas (INFARMED, 2017). Sendo considerados géneros alimentícios, a venda de SA não carece de uma prescrição, podendo ser realizada em lojas de produtos dietéticos, supermercados, farmácias, parafarmácias e, em geral, em qualquer estabelecimento que apresente condições para a venda de produtos alimentares. Estes produtos podem também ser adquiridos online, o que por vezes pressupõe um risco para a saúde dos consumidores, dado o desconhecimento da proveniência dos suplementos e consequentemente da sua autenticidade e qualidade (DGAV, 2019).

1.2. Regulamentação e controlo

Em Portugal, a regulamentação dos SA encontra-se a cargo da DGAV, uma vez que é este o organismo responsável pela definição, execução e avaliação das políticas de segurança alimentar (Decreto-Lei n.º 118/2015). Cabe à Divisão de Alimentação Humana da Direção de Serviços de Nutrição e Alimentação da DGAV, o controlo e a regulamentação dos SA, através da análise de dossiers de notificação e coordenação das ações integradas dos planos anuais de controlo, sendo também responsável pela definição

das principais linhas orientadoras (DGAV, 2019). Por outro lado, cabe à ASAE a fiscalização do cumprimento da legislação relativa aos SA (INFARMED, 2016).

1.3. Composição e classificação

Embora a classificação dos SA nem sempre seja clara, é possível diferenciar três grandes grupos: vitaminas e minerais, plantas e extratos botânicos e outras substâncias (fibras e probióticos, ácidos gordos essenciais, aminoácidos e enzimas) (INFARMED, 2017). Na Tabela 3 encontram-se alguns exemplos de SA.

Tabela 3. Classificação e exemplos de suplementos alimentares.

CATEGORIA	EXEMPLOS
Vitaminas e minerais	Vitamina D, Vitamina A, cálcio
Plantas e extratos botânicos	<i>Panax ginseng</i> , <i>Ginkgo biloba</i> , <i>Aloe vera</i>
Fibras e probióticos	Inulina, leveduras, <i>Lactobacillus acidophilus</i>
Ácidos gordos essenciais	Ácido eicosapentaenóico (EPA), Ácido docosa-hexaenóico (DHA), Ácido gama-linolénico (GLA)
Aminoácidos e enzimas	Taurina, L-arginina, coenzima Q10

Existe ainda a categoria dos considerados produtos-fronteira, ou seja, substâncias que podem ser classificadas simultaneamente como SA e medicamentos. De facto, a Lei Portuguesa não proíbe que compostos com atividade farmacológica possam ser incluídos em SA, pelo que a mesma substância pode ser comercializada obedecendo a diferentes critérios (legislação de medicamentos ou legislação alimentar). Existem diversas substâncias incluídas nos chamados produtos-fronteira, como: valeriana, melatonina, glucosamina/condroitina, *Serenoa repens* e *Ginkgo biloba* (INFARMED, 2017). Este tipo de produtos são muitas vezes motivo de preocupação para a Comissão Europeia, os Estados Membros e as empresas, dado o seu potencial para originar diferentes

interpretações, o que pode constituir um perigo para a saúde dos consumidores (INFARMED, 2016).

1.4. Relação entre suplementos alimentares e medicamentos – enquadramento legal

Devido à dificuldade em classificar determinados produtos-fronteira, em 2008, o Conselho da Europa emitiu um documento no qual esclarece esta questão, tendo em conta o conceito de homeostasia. De facto, esta define-se como o estado de um organismo, cujos parâmetros das funções fisiológicas se encontram dentro de limites tidos como normais (INFARMED, 2016).

Assim, de acordo com a documentação da União Europeia (UE), o consumo dos SA deve ser feito com o objetivo de apoiar, manter ou otimizar as funções fisiológicas normais, não devendo ser capaz de alterar ou bloquear essas mesmas funções (Diretiva 2002/46/CE). Por outro lado, é considerado medicamento toda a substância ou composição de substâncias que mostrem propriedades curativas ou de prevenção de doenças no ser humano, assim como as substâncias ou associações que possam ser administradas com o objetivo de obter um diagnóstico médico ou que possam corrigir, modificar ou restaurar os processos fisiológicos humanos, realizando uma ação farmacológica, metabólica ou imunológica (Decreto-Lei n.º 176/2006) (Tabela 4).

Tabela 4. Quadro-resumo da legislação aplicável e objetivos dos suplementos alimentares e dos medicamentos.

	Suplemento alimentar	Medicamento
Legislação Europeia	Diretiva 2002/46/CE	Diretiva 2001/83/CE
Legislação Nacional	Decreto-Lei n.º 118/2015	Decreto-Lei n.º 176/2006
Objetivos	Manter, apoiar e/ou otimizar as funções fisiológicas do organismo.	Corrigir, restaurar ou modificar os processos fisiológicos.

1.5. Consumo de suplementos alimentares e Medicina Proativa

Nas últimas décadas, a associação entre melhores condições de vida e os avanços da Medicina levaram a um aumento considerável da esperança média de vida da população, com um conseqüente envelhecimento da mesma e o aparecimento cada vez mais frequente de variadas doenças crónicas, como doenças cardiovasculares, cancro, hipertensão, dislipidemias, doenças neurodegenerativas, osteoporose e obesidade (Egger & Dixon, 2014; Furman et al., 2019; Schmidt, 2016). De facto, o envelhecimento da população tem como inevitável consequência um aumento dos custos associados aos cuidados de saúde dos cidadãos por parte dos vários sistemas de saúde de todo o mundo (Schmidt, 2016). Desta forma, surge a necessidade do aparecimento de uma Medicina proativa, baseada na prevenção e, possivelmente, também no controlo de algumas destas doenças crónicas, tendo por base o recurso aos SA (Figura 1) (Santini et al., 2017). A preocupação crescente dos consumidores no que se refere à obtenção de um estado de saúde ótimo e o facto de estes desejarem possuir um papel ativo na prevenção do aparecimento de certas doenças tem levado a indústria dos SA a um brutal crescimento, o qual se traduz em lucros anuais de vários biliões de dólares (IADSA, 2018). No contexto atual de pandemia provocada pelo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2) tem-se verificado, tanto em Portugal, como em toda a Europa, um crescimento nas vendas de suplementos para reforço do sistema imunitário (*Euromonitor International*, 2020).

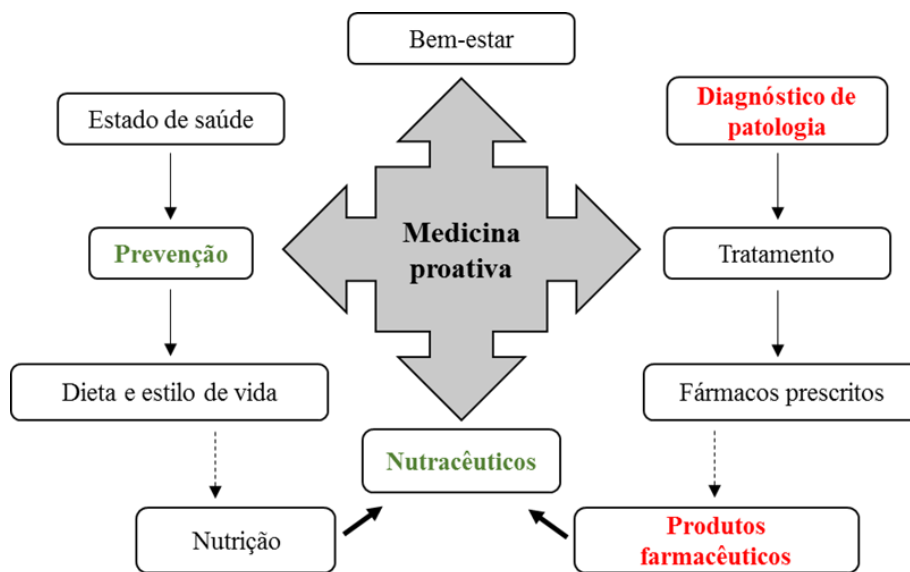


Figura 1. Esquema representativo do conceito de Medicina proativa (adaptada de Santini et al., 2017).

1.6. Distinção de conceitos: nutracêutico vs suplemento alimentar

“Que o teu alimento seja o teu remédio e que o teu remédio seja o teu alimento”. Esta célebre frase de Hipócrates (460-377 a.C.), considerado como o pai da Medicina Moderna, resume a relação histórica entre a qualidade da alimentação e a preservação de um estado de saúde íntegro (Chanda et al., 2019). De facto, o crescente conhecimento nos últimos anos sobre a inevitável ligação entre nutrição e estado de saúde, levou ao desenvolvimento da palavra “nutracêutico”, a qual acaba por ser uma junção (*portmanteau*) entre a palavra “nutrição” e “farmacêutico”. Esta palavra foi usada pela primeira vez em 1989 por Stephen DeFelice (Diretor da Fundação para a Inovação em Medicina) e, segundo o mesmo autor, um nutracêutico seria um alimento ou parte de um alimento capaz de proporcionar benefícios para a saúde, incluindo a prevenção e/ou o tratamento de doenças (Santini & Novellino, 2017; Santini et al., 2017).

Tendo em conta a atual legislação, a nível europeu podemos verificar que em nenhum momento é referida a definição de nutracêutico, sendo que esta acaba por encaixar na atual definição de suplemento alimentar. De facto, tendo em conta a falta de uma clara definição da referida palavra na legislação, vários autores na literatura têm tentado definir a mesma, de acordo com os seus próprios conceitos. Desta forma, em 2010, após a revisão de 25 definições encontradas na literatura, Palthur resolveu definir nutracêutico da seguinte forma:

“Um nutracêutico é um alimento ou a parte de um alimento para administração oral com um perfil de segurança e benefícios para a saúde demonstrados, para lá das suas funções básicas nutricionais, para suplementar a dieta, apresentado numa matriz não alimentar ou em formatos não convencionais para alimentos, em quantidade que exceda a que seria obtida através da alimentação normal e em frequência necessária para obter esses mesmos benefícios” (Andrew & Izzo, 2017).

Esta definição de Palthur (Palthur et al., 2010) acaba por ser bastante parecida com a definição de suplemento alimentar da UE. No entanto, vários outros autores discordam desta definição, uma vez que vêm nos nutracêuticos substâncias de origem vegetal ou animal com atividade farmacológica, as quais poderão, após os devidos ensaios clínicos ser efetivamente utilizadas para a prevenção, controlo e também para o tratamento de variadas doenças, nomeadamente as doenças crónicas associadas ao estilo de vida e ao envelhecimento da população.

Na página da Associação Europeia de Nutracêuticos é possível encontrar a seguinte definição:

“Nutracêuticos são produtos nutricionais que proporcionam benefícios médicos e para a saúde, incluindo a prevenção e o tratamento de doenças. Ao contrário dos fármacos, estes não são substâncias sintéticas ou compostos químicos formulados para indicações específicas. Estes produtos contêm nutrientes (alguns na forma concentrada) e a maioria deles encontra-se classificado como alimentos, sendo que os suplementos alimentares são um típico exemplo de nutracêuticos, embora os alimentos dietéticos e funcionais possam também ser incluídos neste tipo de produtos.” (*European Nutraceutical Association*, 2018).

Desta forma, tendo em conta a falta de legislação clara e concisa no que se refere aos nutracêuticos, em 2018, Santini et al. sugeriram a seguinte definição:

“Nutracêuticos são substâncias ativas, as quais podem ser extraídas de plantas, como fitocomplexos, ou ter origem animal e que podem constituir produtos úteis na promoção da saúde, na prevenção de doenças ou oferecer propriedades medicinais em geral, dada a sua eficácia clínica comprovada. Estas substâncias são concentradas e administradas numa forma farmacêutica adequada (cápsulas, comprimidos). Esta categoria engloba assim os suplementos dietéticos, formulações à base de vitaminas e/ou minerais, suplementos herbais e produtos de origem animal.” (Santini et al., 2018).

Assim, podemos inferir que, para Santini et al. (2018), uma grande característica que diferencia os nutracêuticos dos SA é a obrigatoriedade de os primeiros serem sujeitos a ensaios clínicos e à comprovação científica dos seus benefícios terapêuticos (Daliu et al., 2019).

Para uma melhor compreensão de conceitos convém também referir a definição de alimento funcional, de acordo com a *Functional Food Science in Europe* (FUFOSE):

“É um alimento que afeta de forma benéfica uma ou mais funções corporais para lá dos seus devidos efeitos nutricionais, de uma forma que seja relevante para a obtenção de uma melhoria do estado de saúde e bem-estar e/ou para a redução do risco de doença. É consumido na forma de matriz alimentar, pelo que não se apresenta em formas farmacêuticas como cápsulas e comprimidos, não sendo assim considerado um suplemento alimentar.” (*European Comission*, 2010).

Ora, independentemente das várias definições circulantes, é imperativo que se obtenha por parte da UE a definição inequívoca de nutracêutico, uma vez que a legislação vigente considera que qualquer substância com poder terapêutico ou de cura de uma patologia deve ser classificada como medicamento e nunca como SA (Bragazzi et al., 2017; INFARMED, 2016). Desta forma, de acordo com a legislação europeia, nesta tese, apesar das suas possíveis diferenças, SA e nutracêuticos serão referidos de forma indistinta, encontrando-se a sua classificação resumida na Figura 2.

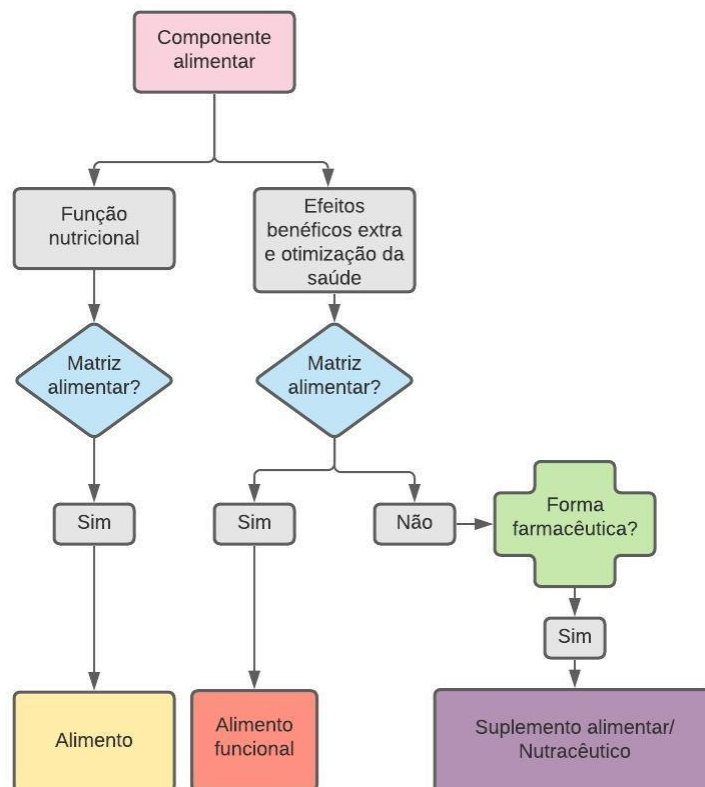


Figura 2. Esquema-resumo da distinção entre alimento, alimento funcional e suplemento alimentar/nutracêutico.

II. *Stress* oxidativo

O oxigénio constitui um elemento essencial para a existência de vida multicelular, sendo também, no entanto, um dos elementos químicos mais reativos na natureza. Desta forma, pelo menos no que se refere aos organismos aeróbios, a oxidação é uma das principais formas de obtenção de energia, a nível celular (Ohl et al., 2016). De facto, durante a respiração aeróbia, nas mitocôndrias, o oxigénio atua como o último aceitador de eletrões e em conjunto com o hidrogénio formam-se moléculas de água. Porém, durante este processo formam-se também espécies intermediárias de oxigénio, como, por exemplo, os radicais livres, os quais se encontram parcialmente reduzidos, ou seja, apresentam eletrões desemparelhados na sua orbital externa, sendo por isso extremamente reativos (Benzie & Strain, 2009; Larosa & Remacle, 2018; Phaniendra et al., 2015). Os radicais livres são, então, substâncias que tendem a estabilizar-se ao reagir com outras moléculas, causando oxidação (Ali et al., 2020). Além das espécies reativas de oxigénio (ROS), o metabolismo das células resulta também na formação de espécies reativas de azoto (RNS), cobre, ferro e enxofre (RSS), as quais podem também contribuir para o aumento do *stress* oxidativo e desequilíbrio do balanço redox nas células (Figura 3) (Ali et al., 2020; Guillaumet-Adkins et al., 2017; Poljsak et al., 2013).



Figura 3. Desequilíbrio redox intracelular e ocorrência de *stress* oxidativo (adaptada de Poljsak et al., 2013).

Geralmente, no sentido de se conseguir a manutenção da homeostasia intracelular, o corpo humano possui um sistema de defesa antioxidante, o qual contrabalança a presença de espécies pró-oxidantes, o que se traduz no equilíbrio entre as reações de oxidação e de redução, a nível celular. De facto, as ROS possuem funções cruciais a nível fisiológico, nomeadamente na fosforilação de proteínas, proliferação e diferenciação celular, ativação de fatores de transcrição, produção de hormonas esteroides, imunidade celular e defesa

contra microrganismos, angiogénese, vasodilatação, neurogénese, entre outras. Todos estes processos encontram-se dependentes de uma adequada produção de ROS e da sua presença em pequenas quantidades a nível celular, sendo este fenómeno denominado de eustress oxidativo (Rajendran et al., 2014; Sies & Jones, 2020; Zhang et al, 2019). No entanto, pode acontecer, devido a processos metabólicos ou tóxicos, que a quantidade produzida de substâncias oxidantes ultrapasse a capacidade de eliminação do sistema antioxidante celular, ocorrendo uma acumulação das espécies pró-oxidantes e o seu aumento em detrimento do número de espécies antioxidantes, colocando assim em risco o equilíbrio redox intracelular e levando a uma situação de *stress* oxidativo, conhecido por distress oxidativo (Pizzino et al., 2017; Sies & Jones, 2020). Assim, a acumulação de espécies reativas pode levar ao dano de diversas estruturas celulares, como o ácido desoxirribonucleico (DNA), lípidos, proteínas e hidratos de carbono, podendo mesmo conduzir à morte das células, ao dano nos tecidos e à inflamação, culminando no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, entre outras (Ali et al., 2020; Carocho & Ferreira, 2013; Sena et al., 2018; Sies & Jones, 2020; Zhang et al, 2019). Existe ainda um nível intermédio, que corresponde a um aumento moderado de *stress* oxidativo (exercício físico moderado, restrição calórica), o que conduz a uma resposta adaptativa, maior resistência ao stress e aumento da capacidade antioxidante das células, o que deu origem ao conceito de hormese (Sies & Jones, 2020) (Figura 4).

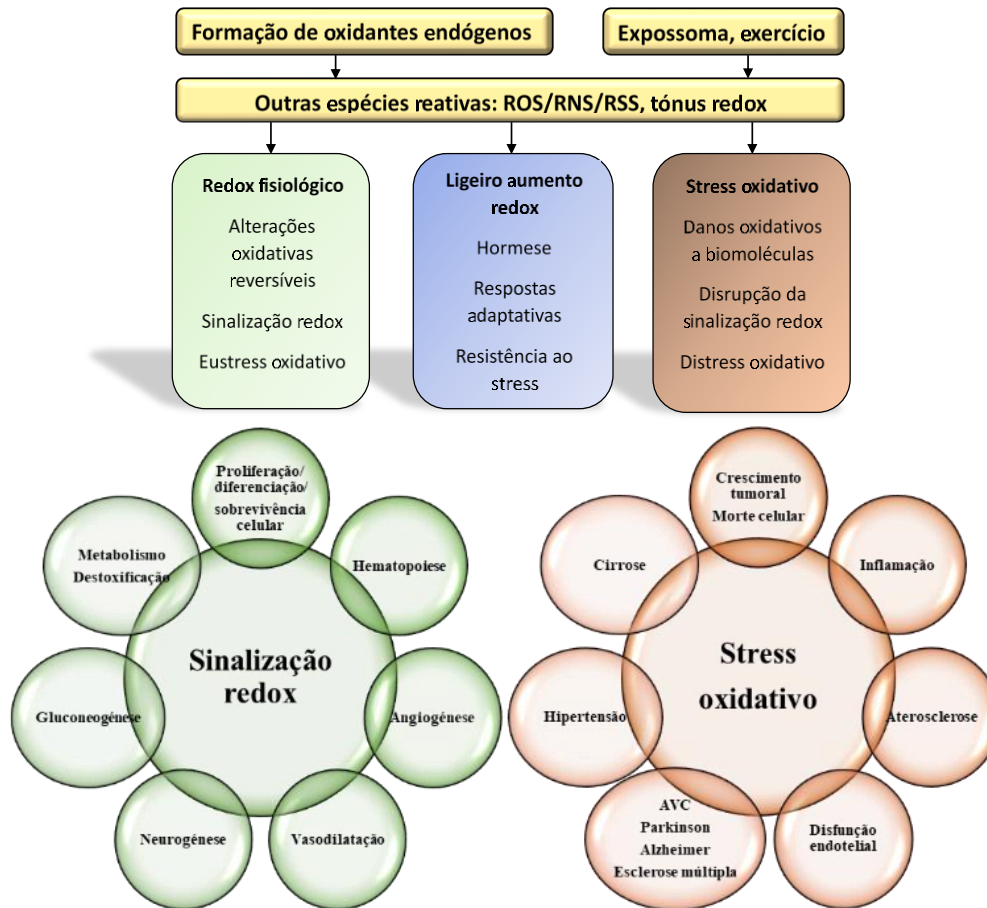


Figura 4. Diferentes efeitos do redox fisiológico, do ligeiro aumento de redox e do *stress* oxidativo a nível celular. Papel da sinalização redox em diversos processos celulares e do *stress* oxidativo no desenvolvimento de doenças (adaptada de Sies & Jones, 2020 e Zhang et al., 2019).

Nos últimos anos, têm surgido cada vez mais evidências da implicação do *stress* oxidativo no envelhecimento, assim como no aparecimento e desenvolvimento de variadas patologias, como diabetes, cancro, doenças metabólicas, doenças cardiovasculares, aterosclerose, doenças neurodegenerativas, dislipidemias, doenças relacionadas com a obesidade, doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC), doenças inflamatórias intestinais e doenças autoimunes (artrite reumatoide, entre outras) (Dodson et al., 2019; Matschke et al., 2019; Pizzino et al., 2017; Rajendran et al., 2014; Sena et al., 2018).

Tendo em conta as evidências de que o *stress* oxidativo constitui um desequilíbrio no balanço entre espécies oxidantes e antioxidantes a nível celular e que este fenómeno se encontra na base da fisiopatologia de diversas doenças crónicas, torna-se fundamental a deteção de possíveis anomalias em vias de sinalização redox, o que poderá conduzir ao desenvolvimento de possíveis alvos terapêuticos em doenças nas quais o *stress* oxidativo está implicado (Sena et al., 2018). No entanto, convém ressaltar que, para o equilíbrio

redox, contribuem adequadas quantidades de substâncias oxidantes a par de uma proporção adequada de substâncias antioxidantes, dado que tanto o *stress* oxidativo como o *stress* antioxidante são prejudiciais para a homeostasia celular. Desta forma, o consumo de quantidades excessivas de substâncias antioxidantes é igualmente prejudicial ao equilíbrio redox das células (Poljsak et al., 2013).

2.1. Principais espécies oxidantes e sua formação

As ROS, as RNS e as RSS constituem as principais classes de oxidantes no organismo. Estas dividem-se em espécies radicais e não radicais. No que se refere às ROS, destacam-se entre estas os radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e hidroxilo (HO^{\cdot}). Quanto aos não radicais, destacam-se o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), o oxigénio singlete e o ácido hipocloroso (HClO). Relativamente às RNS, destacam-se o óxido nítrico (NO) e o anião peroxinitrito ($ONOO^-$). No grupo das RSS importa mencionar o radical tiil e outras espécies reativas de enxofre resultantes da reação entre ROS e tióis (Ali et al., 2020).

No interior da célula existem diversas fontes de ROS, sendo que estas podem ser classificadas em duas categorias: as que produzem ROS como resultado colateral de outras reações metabólicas (*waste product*), com uma grande contribuição da mitocôndria, e as que sintetizam ROS de forma intencional para participação em vias de transdução de sinal ou em mecanismos de defesa da célula, onde se incluem diversas enzimas (Morgan & Liu, 2011). De facto, as espécies reativas são produzidas na célula de forma contínua, principalmente como resultado da transferência de eletrões na cadeia respiratória mitocondrial e também devido à atividade de várias enzimas envolvidas em processos inflamatórios, como a NADPH oxidase (NOX), lipoxigenase, óxido nítrico sintetase (NOS), xantina oxidase, cicloxigenase (COX) e mieloperoxidase (MPO) (Guo et al., 2020; Vona et al., 2019).

No que se refere à cadeia de eletrões mitocondrial, é de referir que 1 a 3% do oxigénio é convertido em $O_2^{\cdot-}$, o qual dará origem a outras ROS, sendo que a maioria é gerada via complexos I e III ao nível da mitocôndria. Por outro lado, também é importante referir que, através deste mecanismo, todas as células no organismo transformam uma pequena parte do oxigénio que recebem em ROS, sendo que em determinadas condições outras fontes celulares destas espécies reativas podem assumir uma maior relevância (Guo et al., 2020).

A produção de $O_2^{\cdot-}$ inicia-se com o consumo de oxigénio (O_2) e ativação das NOX, presentes nas membranas das células, sendo que a NOX4 apresenta um papel

preponderante ao nível da mitocôndria (Ali et al., 2020; Koziel et al., 2013). A elevada reatividade e instabilidade do $O_2^{\cdot-}$ leva a que rapidamente se transforme em H_2O_2 por ação da enzima superóxido dismutase (SOD), sendo que em situações de infecção bacteriana isto ocorre a nível do fagossoma (Ali et al., 2020; Amir Aslani & Ghobadi, 2016). Por sua vez, o H_2O_2 , na presença de ferro ferroso (Fe^{2+}), através da reação de Fenton, forma o radical HO^{\cdot} , um potente oxidante antimicrobiano (Amir Aslani & Ghobadi, 2016). O $O_2^{\cdot-}$ pode também reagir com o NO formando o $ONOO^-$, o qual conduz à disfunção da enzima NOS endotelial (eNOS), provocando uma diminuição da sua produção de NO. A diminuição da biodisponibilidade desta molécula a nível vascular é um mecanismo de elevada relevância no que toca ao desenvolvimento de patologias cardiovasculares (Li et al., 2013).

Por outro lado, a enzima MPO é libertada nos vacúolos fagocíticos a partir de grânulos do citoplasma e irá oxidar aniões derivados de elementos halogéneos. No caso do anião cloreto, forma-se o HClO, um potente oxidante que poderá ainda gerar radicais HO^{\cdot} ao reagir com o $O_2^{\cdot-}$ ou com Cu^+/Fe^{2+} (Amir Aslani & Ghobadi, 2016; Kalyanaraman, 2013). O HClO é capaz de oxidar cadeias de aminoácidos, nomeadamente metionina, o que pode comprometer a função de proteínas (Wang et al., 2015). No decorrer do processo de produção de ROS no fagossoma, podem escapar algumas ROS para o citosol, levando a um aumento do *stress* oxidativo na célula (Morgan & Liu, 2011).

A acumulação de espécies reativas pode levar ao dano de diversas estruturas celulares, como o DNA (genotoxicidade), lípidos (peroxidação lipídica) e proteínas (modificação proteica e inativação enzimática), podendo mesmo conduzir à morte das células, ao dano nos tecidos e à inflamação (Figura 5) (Ali et al., 2020; Carochi & Ferreira, 2013; Sena et al., 2018). Estes processos podem dar origem a compostos tóxicos que podem ser utilizados como biomarcadores de *stress* oxidativo, como o malondialdeído (MDA), o 4-hidroxinonenal (4-HNE), a acroleína e os isoprostanos, sendo que estes últimos têm demonstrado uma capacidade relevante para induzir vasoconstrição (Gianazza et al., 2021).

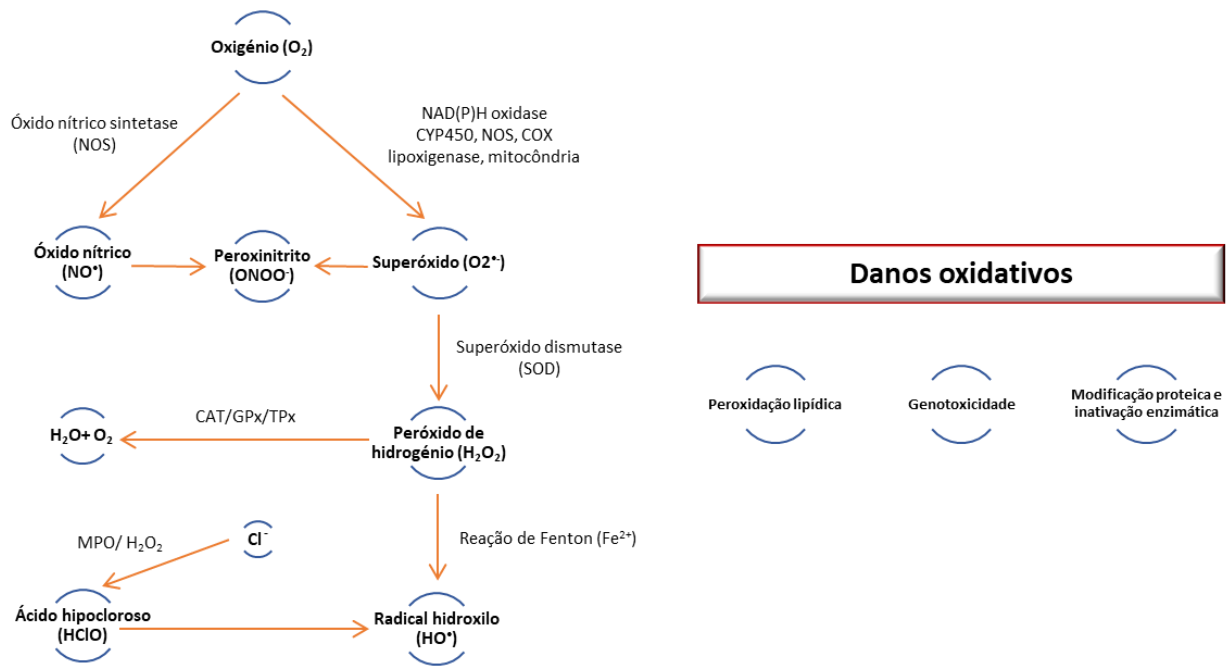


Figura 5. Principais reações de formação de ROS e RNS e danos oxidativos consequentes.

As espécies reativas, principalmente as ROS e RNS, desempenham importantes funções a nível fisiológico quando se encontram em baixas concentrações, nomeadamente como moléculas de sinalização e na regulação intracelular. Por exemplo, o NO, além de constituir um importante mediador a nível imunológico, sendo produzido por macrófagos ativados, é também produzido pelos neurónios, funcionando como um importante neurotransmissor. Além disso, as ROS atuam na regulação da enzima guanilato ciclase solúvel a nível celular, sendo que a ativação desta enzima resulta na formação de guanosina monofosfato cíclica (GMPc), um importante segundo mensageiro em células de vários tecidos do organismo. Por outro lado, as ROS participam na transcrição genética e na transdução de sinal nas células, assim como na função imunitária do organismo, intervindo na eliminação de microrganismos patogénicos (Amir Aslani & Ghobadi, 2016; Sies & Jones, 2020).

2.2. *Stress* oxidativo e inflamação

Tal como referido anteriormente, o *stress* oxidativo tem sido associado ao desenvolvimento de várias patologias crónicas. Por exemplo, no que se refere ao anião hipoclorito, formado a partir do HClO, este é uma ROS não radical produzida em condições fisiológicas por neutrófilos ativados numa reação catalisada pela enzima MPO. É um potente oxidante e inativador de antiproteases, como a alfa-2-macroglobulina. De

facto, algumas proteínas alteradas por ação desta espécie oxidante, estão associadas à fisiopatologia de diversas doenças, como a artrite e a doença de Alzheimer (DA), tendo já sido também detetadas na aterosclerose (Ali et al., 2020).

Por outro lado, o NO ao reagir com o $O_2^- \cdot$ forma o $ONOO^-$, uma das espécies mais reativas que se conhece. De facto, o $ONOO^-$ reage com proteínas para formar a 3-nitrotirosina (3-NT). Células inflamatórias, como os neutrófilos ativados e os eosinófilos, sintetizam substâncias reativas, as quais levam à formação de 3-NT. Este composto é, assim, um marcador de *stress* nitrosativo e também de inflamação. Níveis elevados de NO e 3-NT têm sido associados a várias patologias, nomeadamente doenças que afetam a pele, como lúpus eritematoso sistémico (LES), psoríase, cancro da pele, urticária e dermatite atópica (Kurutas, 2016).

Nos últimos anos, a fisiopatologia de diversas doenças crónicas, como as doenças neurodegenerativas, obesidade e doenças cardiovasculares, tem sido associada à interação entre fatores genéticos, ambientais e estilo de vida, sendo que as evidências científicas indicam que o *stress* oxidativo e a inflamação crónica desempenham um papel preponderante no desenvolvimento destas patologias (Furman et al., 2019; Taha & Blaise, 2014) (Figura 6).



Figura 6. Causas da produção de ROS, alvos celulares e possíveis consequências associadas (adaptado de Ferreira et al., 2009).

A inflamação constitui, assim, um processo biológico de elevada importância, o qual se encontra presente em diversas enfermidades. De facto, em condições fisiológicas normais, o dano nos tecidos ou as infeções desencadeiam uma resposta inflamatória, a qual permite obter a reparação tecidual e um regresso à homeostasia. No entanto, quando ocorre uma falha nos mecanismos de regulação da inflamação, este processo pode prolongar-se no tempo, conduzindo a danos colaterais nos tecidos e ao desenvolvimento de patologias crónicas. Desta forma, a regulação da resposta inflamatória é bastante vulnerável à ação de fatores ambientais, nomeadamente dieta, estilo de vida, infeções,

determinados fármacos, *stress* emocional e agentes tóxicos (tabaco, iões metálicos, entre outros), existindo algumas pessoas com maior suscetibilidade genética (Okin & Medzhitov, 2012; Taha & Blaise, 2014).

É também importante ressaltar que o *stress* oxidativo e a inflamação constituem dois lados da mesma moeda. Quando ocorre um processo inflamatório, algumas células imunitárias migram ao local da inflamação, produzindo ROS. Por outro lado, o consequente aumento do *stress* oxidativo acaba por chamar mais células inflamatórias ao local, o que conduz a um aumento das ROS e de outros mediadores inflamatórios, como as citocinas pró-inflamatórias interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), num ciclo vicioso que perpetua o dano nos tecidos (Okin & Medzhitov, 2012; Taha & Blaise, 2014).

As doenças não comunicáveis constituem uma das principais causas de baixa laboral, fardo económico para os sistemas nacionais de saúde, perda de qualidade de vida e mortalidade. Ora, a presença de inflamação crónica de baixo grau tem sido associada a diversas patologias, como doenças autoimunes, doenças metabólicas, doenças cardiovasculares, cancro, depressão, doenças neurodegenerativas e síndrome de fadiga crónica/encefalomielite miálgica (SFC/EM) (Bonaccio et al., 2016; Bosma-den Boer et al., 2012; Chen et al., 2016; Furman et al., 2019; Geng et al., 2016; Golia et al., 2014; Lacourt et al., 2018; Lasselin & Capuron, 2014; Maydych, 2019; Pahwa et al., 2020; Ruiz-Núñez et al., 2013).

Entre os fatores de risco para o desenvolvimento de inflamação crónica de baixo grau encontram-se o *stress*, a privação do sono, a alimentação rica em gorduras saturadas e açúcares refinados, o tabaco, o envelhecimento e a obesidade. Este tipo de inflamação crónica pode ainda ser responsável por sintomas como dores no corpo (mialgias e artralgias), fadiga, má qualidade do sono (insónia), problemas gastrointestinais e aumento de peso (Pahwa et al., 2020).

2.3. *Stress* emocional e inflamação crónica

Nos últimos anos, alguns estudos revelaram o possível papel do *stress* emocional e da alimentação no aumento da permeabilidade intestinal, consequente endotoxemia e inflamação de baixo grau. De facto, o aumento da permeabilidade intestinal tem sido associado a várias doenças e síndromes, como diabetes mellitus tipo 2, síndrome metabólica, doença hepática não alcoólica, doença inflamatória intestinal, entre muitas outras. Desta forma, esta associação tem conduzido os especialistas à conclusão de que o

aumento crónico da permeabilidade intestinal pode permitir uma maior translocação de antígenos microbianos e dietéticos que atravessam a barreira intestinal, o que pode contribuir para um estado pró-inflamatório do organismo (de Punder & Pruijboom, 2015).

As interações neuroendócrino-imunológicas em relação com a barreira intestinal permitem explicar de que forma o *stress* crónico, muitas vezes resultante da vida na sociedade moderna, pode contribuir para a disfunção da barreira intestinal e consequente endotoxemia. De facto, o *stress* emocional, provoca a ativação do sistema nervoso simpático (SNS) e da microglia, assim como a estimulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenais (HPA), o que se traduz na produção de catecolaminas e corticosteroides pelas glândulas adrenais. Por sua vez, as fibras nervosas adrenérgicas do SNS, quando estimuladas, provocam o aumento da absorção de glucose, sódio e água e, por conseguinte, ocorre um aumento da permeabilidade da barreira intestinal, o que promove a translocação de endotoxinas, como os lipopolissacarídeos (LPS). Estas endotoxinas estimulam células imunitárias que se encontram na lamina própria da barreira intestinal, o que leva à produção de citocinas pró-inflamatórias e prostaglandinas, como a prostaglandina E2 (PGE2). Estes mediadores inflamatórios, ao comunicarem com o cérebro, através de diversos mecanismos, criam um ciclo vicioso no qual todo este processo se repete, conduzindo a um estado pró-inflamatório do organismo (Figura 7) (de Pablos et al., 2014; de Punder & Pruijboom, 2015; Stefanaki et al., 2018).

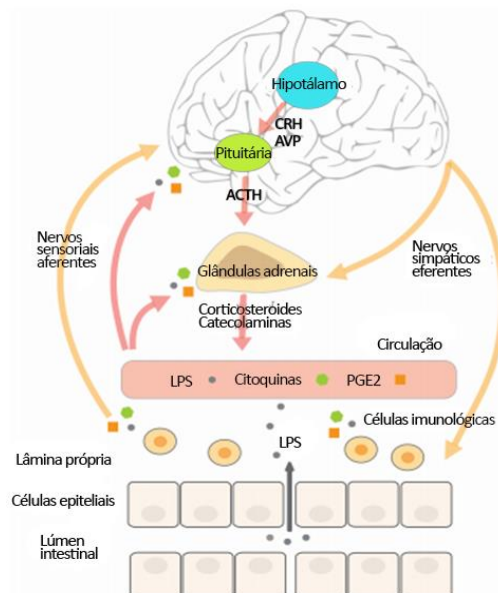


Figura 7. Influência do *stress* emocional na ativação do eixo HPA e consequente endotoxemia e inflamação (adaptada de de Punder & Pruijboom, 2015). ACTH, hormona adrenocorticotrófica; AVP, vasopressina/hormona antidiurética; CRH, hormona libertadora da corticotrofina.

A inflamação crónica de baixo grau associada ao *stress* emocional, pode dever-se também à capacidade deste para originar uma desregulação do sistema imunitário, o que resulta numa maior suscetibilidade do organismo a doenças infecciosas, nomeadamente provocadas por vírus, os quais, por sua vez, podem induzir mais *stress* oxidativo, causando um ciclo vicioso (Georgescu et al., 2018; Ivanov et al., 2017; Kerr, 2019).

Vários estudos têm também confirmado que o *stress* emocional se encontra relacionado com a reativação de vírus da família Herpes, como por exemplo, o vírus varicela-zóster (varicela), o vírus Epstein-Barr (EBV) e os vírus herpes simplex. No caso do EBV, a sua reativação é acompanhada de diversas alterações ao nível da imunidade celular, sendo que esta é fundamental para a manutenção do estado de latência do vírus (Kerr, 2019).

Uma vez que o *stress* emocional tem comprovado causar desregulação da resposta imunológica celular, não é de estranhar que ocorra uma diminuição da capacidade normal do organismo em manter o vírus no seu estado latente, o que conduz à reativação e replicação do mesmo, sendo que estas reativações podem dar origem, por vezes, a sintomas semelhantes aos da gripe. Desta forma, o *stress* psicológico continuado, em associação com as reativações virais, poderá resultar no desenvolvimento de várias patologias, como cancro nasofaríngeo, doença linfoproliferativa pós-transplante, SFC/EM e LES (Blomberg et al., 2018; Kerr, 2019; Jog et al., 2019; Morris & Maes, 2013; Sotzny et al., 2018). De facto, apesar de ainda ser necessária muita investigação nesta área, estudos recentes têm associado o EBV à fisiopatologia de diversas outras doenças autoimunes, como a artrite reumatoide, a esclerose múltipla, a artrite juvenil idiopática, a doença inflamatória intestinal, a doença celíaca e a diabetes mellitus tipo 1 (Draborg et al., 2016; Fetisova et al., 2019; Harley et al., 2018). A fibromialgia tem também sido associada ao EBV, tendo-se verificado a existência de uma relação diretamente proporcional entre a concentração de imunoglobulinas G (IgG) para EBV e a severidade dos sintomas clínicos da doença (Guzmán-Silahua et al, 2018; Reshkova et al, 2015).

Por outro lado, em situações não patológicas, a produção de glucocorticoides, associada à ativação do eixo HPA, leva a uma diminuição da resposta inflamatória. No entanto, a estimulação deste eixo de forma crónica, associada ao *stress*, conduz a uma situação de hipercortisolismo, que resulta num aumento da lipogénese e acumulação de gordura na zona visceral, o que acarreta várias consequências metabólicas. Pode induzir alterações do comportamento alimentar (tendência para escolha de alimentos muito energéticos ricos em açúcares e gordura, levando a um balanço energético positivo) e pode conduzir

a uma diminuição da sensibilidade aos corticoides por parte das células imunitárias, as quais deixam de exercer as suas ações de modulação e inibição (resistência aos corticoides) (Lucassen & Cizza, 2012).

O *stress*, a desregulação do eixo HPA e o aumento do cortisol de forma continuada têm sido associados a várias doenças crónicas (algumas associadas ao envelhecimento), como obesidade, diabetes, hipertensão, aterosclerose, demência, síndrome do ovário poliquístico e doenças autoimunes, sendo que a presença da síndrome metabólica constitui um grave fator de risco para o desenvolvimento destas mesmas patologias (Martocchia et al., 2016, Stefanaki et al., 2018).

Por fim, o *stress* crónico leva a uma alteração do tipo de citocinas produzido, verificando-se uma maior produção de citocinas do tipo 2, comparada com as citocinas do tipo 1. Desta forma, encontra-se permanentemente ativada a resposta imunológica do tipo 2, responsável pela proteção contra bactérias e toxinas bacterianas extracelulares, enquanto que a resposta do tipo 1, envolvida na eliminação de patógenos intracelulares, como vírus, se encontra inibida (de Punder & Pruijboom, 2015).

Dada a relação intrínseca entre inflamação e *stress* oxidativo, é importante salientar que o *stress* emocional pode conduzir a alterações nas vias de regulação do *stress* oxidativo ao nível celular, nomeadamente através de alterações nas vias NRF2 e NF-κB. De facto, um estudo com ratinhos sujeitos a isolamento crónico e, portanto, a uma situação de *stress* continuado, demonstrou a ocorrência de alterações nestas vias. Além disso, ocorreu uma diminuição da expressão de genes regulados pelo NRF2 quando estes ratinhos foram expostos a uma situação de *stress* agudo (Djordjevic et al., 2015). Num outro estudo, com ratinhos expostos a *stress* continuado no início de vida, também se observaram alterações nas vias NRF2 e NF-κB. De facto, verificou-se que a via NF-κB se encontrava permanentemente ativada, induzindo respostas inflamatórias (nomeadamente através do aumento de citocinas pró-inflamatórias), enquanto que a resposta antioxidante resultante da via NRF2 se encontrava diminuída, o que levou a uma acumulação de *stress* oxidativo nas células (Liu, 2017).

O *stress* emocional, através da ativação da amígdala cerebral, conduz também à ativação prolongada do SNS e à desregulação do eixo HPA, o que se traduz num aumento da resistência à insulina (para a qual contribuem os glucocorticoides e a noradrenalina), aumento de monócitos pró-inflamatórios (por ação da noradrenalina) e disfunção endotelial (por ação da angiotensina II e da noradrenalina), levando a um aumento significativo do *stress* oxidativo que, por sua vez, induz a ativação da via NF-κB (e

consequente inibição da via NRF2). Estes eventos contribuem, assim, para o desenvolvimento da diabetes mellitus tipo 2, obesidade, aterosclerose, inflamação crónica e hipertensão (Ghaemi Kerahrodi & Michal, 2020).

2.4. *Stress* oxidativo, alimentação e inflamação crónica

A alimentação ocidental, muitas vezes rica em gorduras saturadas e *trans* e açúcares refinados, constitui um fator de risco para o aumento do *stress* oxidativo e, consequentemente, da inflamação crónica de baixo grau. No que se refere aos lípidos, estes constituem uma importante fonte energética e são especialmente suscetíveis aos efeitos do *stress* oxidativo, pelo que a sua acumulação nas células, nomeadamente devido a uma alimentação rica em certas gorduras (como as saturadas), constitui a principal razão para que ocorra peroxidação lipídica, sendo que as mitocôndrias, devido à sua contínua produção de ROS, são os organelos mais vulneráveis aos efeitos deste processo. De facto, a peroxidação lipídica ao nível das mitocôndrias pode provocar várias alterações nos fosfolípidos das membranas, o que poderá conduzir a disfunções na cadeia respiratória e, por conseguinte, a um aumento da produção de ROS, do *stress* oxidativo e inflamação (Guo et al., 2020).

A mitocôndria é responsável pela produção da maioria da energia que as células utilizam, sendo que a eficiência da produção de adenosina trifosfato (ATP) pela cadeia respiratória mitocondrial, encontra-se dependente do acoplamento na mitocôndria, ou seja, da associação entre a geração de potencial de membrana ao nível mitocondrial e o seu uso para a síntese de ATP (Crescenzo et al., 2016). No entanto, este acoplamento nunca é total e ocorre a produção colateral de ROS. Assim, a ingestão excessiva de alimentos altamente energéticos e/ou um aumento do acoplamento nas mitocôndrias pode provocar um aumento da força protónica motriz, pelo que os complexos mitocondriais se tornam demasiado reduzidos, podendo por sua vez libertar eletrões que reagem diretamente com o oxigénio, aumentando assim a produção de ROS, o que compromete o normal funcionamento da célula e pode conduzir ao desenvolvimento de várias patologias (Crescenzo et al., 2016; Demine et al., 2019). Outros parâmetros podem ainda contribuir para um aumento das ROS, nomeadamente mudanças no pH, a quantidade de oxigénio disponível no local e alterações redox (Figura 8). Desta forma, o desacoplamento mitocondrial tem sido estudado como potencial alvo terapêutico para diversas patologias, como doenças neurológicas, metabólicas (como obesidade e diabetes mellitus tipo 2) e cardiovasculares (Crescenzo et al., 2016; Demine et al., 2019).

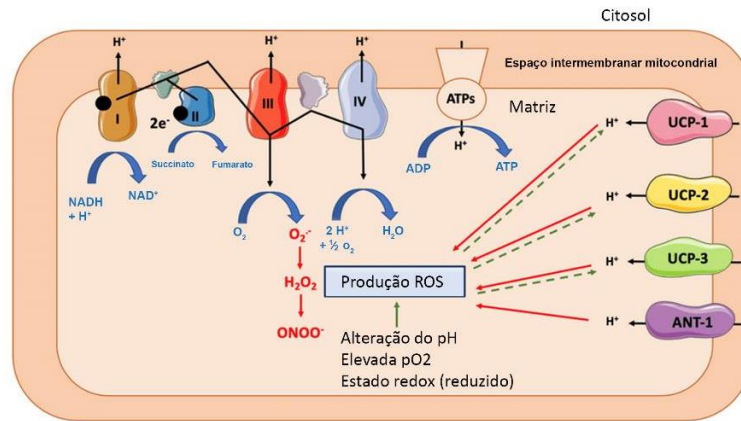


Figura 8. Desacoplamento mitocondrial e produção de ROS (adaptada de Demine et al, 2019).

No que se refere à peroxidação lipídica, num estudo com ratinhos, uma alimentação rica em lípidos resultou numa diminuição da capacidade antioxidante (nomeadamente ao nível enzimático), enquanto que simultaneamente ocorreu uma acumulação de MDA, sendo que este tem provado exercer influência sobre a eficiência da cadeia respiratória e a atividade de enzimas na mitocôndria (Guo et al., 2020). É também importante referir que o 4-HNE tem demonstrado ser capaz de alterar as proteínas e DNA mitocondrial, pelo que tem sido associado à fisiopatologia de diversas doenças (Maulucci et al., 2016).

A alimentação rica em certas gorduras é também capaz de interferir nas vias NRF2 e NF-κB e conduzir a um estado pró-inflamatório do organismo, no qual ocorre um aumento de citocinas pró-inflamatórias, como TNF-α e IL-6, promovendo também a ativação de vias inflamatórias que conduzem a uma maior produção dessas mesmas citocinas. Deste modo, estes eventos podem contribuir para alterações ao nível do metabolismo, ocorrendo aumento da glucose no plasma, diminuição da sensibilidade à insulina e aumento dos triglicéridos, fatores que se encontram presentes na síndrome metabólica (Etchegoyen et al., 2018; Sahin et al., 2017).

A ingestão de grandes quantidades de glucose constitui também um fator de risco para o aumento do *stress* oxidativo e inflamação crónica de baixo grau. De facto, a glucose em excesso desencadeia a produção de ROS pela enzima NOX presente na mitocôndria, podendo comprometer a função de várias enzimas antioxidantes. Por outro lado, a exposição crónica a uma glicemia elevada conduz à formação de compostos α-carbónicos, os quais reagem com outras moléculas, resultando na formação de produtos finais de glicosilação avançada. Estes produtos, nos últimos anos, têm demonstrado desempenhar um importante papel na alteração da função mitocondrial, na modificação da atividade de enzimas antioxidantes e na desregulação da resposta inflamatória

(Chaudhuri et al., 2018; Guo et al., 2020). Assim, é possível afirmar que a exposição crónica a níveis elevados de glucose, conduz a um aumento do *stress* oxidativo e, conseqüentemente, à formação de produtos oxidados, o que compromete o normal funcionamento celular, por exemplo ao nível das células β do pâncreas, podendo levar a uma diminuição da sensibilidade à insulina. Por sua vez, isto resulta num aumento da glucose no plasma, o que se traduz numa relação recíproca entre hiperglicemia e *stress* oxidativo (Guo et al., 2020; Rains & Jain, 2011; Yaribeygi et al., 2020).

A alimentação ocidental, a par do *stress* emocional crónico, tem sido também associada à inflamação do hipotálamo, ativação da microglia, desregulação do eixo HPA, resistência aos glucocorticoides, disbiose intestinal, aumento da permeabilidade intestinal e endotoxemia, fatores que podem contribuir ainda mais para a inflamação crónica de baixo grau (Christ et al., 2019; Do et al., 2018; Fuke et al., 2019; Ghanim et al., 2009; Ghanim et al., 2010; John et al., 2016; Laugerette et al., 2011; Lucassen & Cizza, 2012; Mendes et al., 2018; Myles, 2014; Netto Candido et al., 2018; Samodien et al., 2019; Satokari, 2020). A inflamação do hipotálamo, que se encontra presente na síndrome metabólica e na obesidade, conduz à resistência a hormonas como a insulina e a leptina, as quais se encontram envolvidas na homeostasia energética do organismo (Gao et al., 2017; Jais & Brüning, 2017; Mendes et al., 2018; Samodien et al., 2019; Seong et al., 2019). Além disso, é de reforçar que as dietas altamente energéticas (ricas em gorduras saturadas e triglicéridos) originam um aumento do *stress* oxidativo, com conseqüente ativação da via NF- κ B e indução de inflamação, podendo originar disfunção mitocondrial, associada à fisiopatologia de várias doenças (Figura 9) (Samodien et al., 2019).

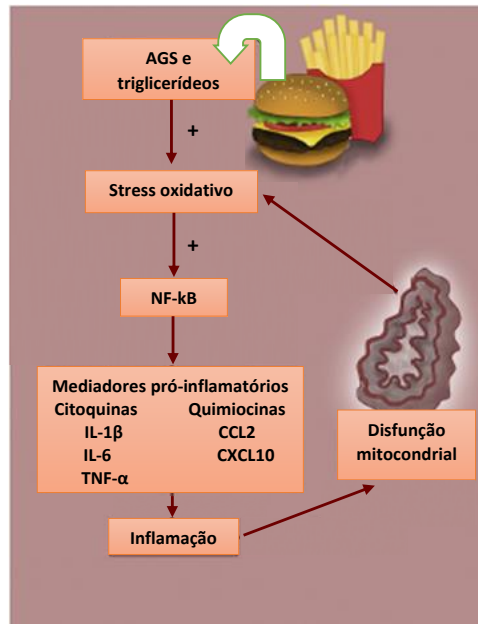


Figura 9. Influência da alimentação rica em ácidos gordos saturados (AGS) e triglicerídeos no *stress* oxidativo, na inflamação e na disfunção mitocondrial (adaptada de Samodien et al., 2019).

A alimentação ocidental está também associada a uma diminuição do consumo de certos nutrientes essenciais, o que contribui para o desenvolvimento de um estado de inflamação crónica e desregulação da resposta imune, aumentando a suscetibilidade do organismo a infeções (Childs et al., 2019; Christ et al., 2019). A alimentação mediterrânica, por outro lado, promove o consumo de legumes, fruta, peixe, frutos secos e gorduras insaturadas, sendo que, devido à ação de compostos bioativos (como os polifenóis), esta dieta está associada a um menor risco de desenvolvimento de doenças nas quais a inflamação crónica de baixo grau se encontra presente (Childs et al., 2019).

É ainda de referir que, nos últimos anos, o consumo de glúten, um complexo proteico presente no trigo, tem sido relacionado com um aumento da inflamação no organismo, pelo que alguns estudos têm associado as dietas livres de glúten a uma melhoria dos sintomas clínicos de algumas doenças, como a obesidade, a artrite reumatoide e a diabetes mellitus tipo 1 (Soares et al., 2013).

2.5. Regulação epigenética e doenças crónicas

O expossoma corresponde à totalidade de fatores ambientais, como alimentação, *stress* e poluição, que, em interação com o genoma, pode dar origem ao desenvolvimento de doenças, nomeadamente doenças crónicas (Vrijheid, 2014). De acordo com a definição aceite atualmente, um traço epigenético corresponde a um fenótipo estável, passível de

ser herdado por meiose ou mitose, o qual resulta de alterações num cromossoma, sem que haja modificações na sequência de DNA (Berger et al., 2009).

As modificações epigenéticas do DNA podem dever-se a vários fatores associados ao estilo de vida moderno, como *stress*, alimentação ocidental, exposição a metais pesados, tabaco e poluição, e compreendem vários mecanismos, entre os quais se encontram a metilação, a acetilação de histonas e a regulação de *feedback* por parte de microRNAs não codificantes (miRNAs), sendo que estes processos não se limitam apenas ao DNA presente no núcleo, podendo também atuar sobre o ácido ribonucleico (RNA), mitocôndrias e proteínas e estar associados ao desenvolvimento de doenças (Figura 10) (Alegría-Torres et al., 2011; Bussler et al., 2017; García-García et al., 2020; Pérez et al., 2019; Remely et al., 2015; Tiffon, 2018). Os fatores epigenéticos parecem também levar a alterações na expressão de fatores de transcrição, como o NRF2 e o NF- κ B, os quais se encontram implicados na regulação do *stress* oxidativo ao nível das células (Cheng et al., 2016; Zannas et al., 2019).

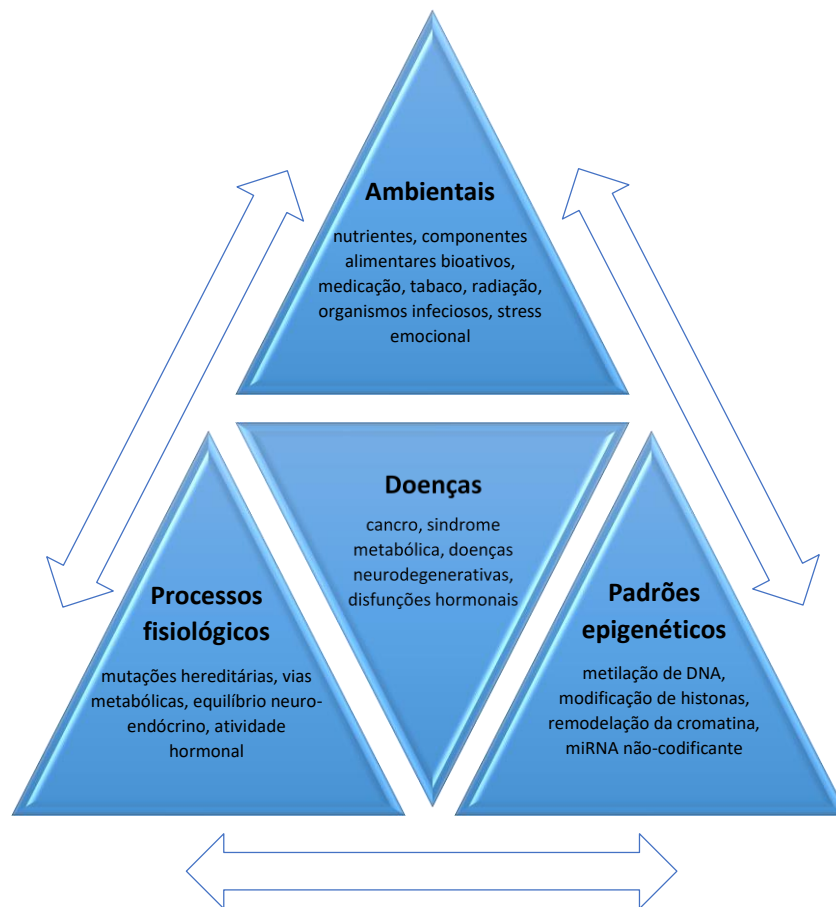


Figura 10. Interação entre fatores ambientais, epigenética, processos fisiológicos e o desenvolvimento de doenças (adaptada de Remely et al., 2015).

As sirtuínas são uma família de proteínas (algumas delas presentes nas mitocôndrias) que atuam como desacetilases das histonas e que se encontram implicadas em várias funções biológicas, nomeadamente no controlo da apoptose, reparação do DNA e regulação do *stress* oxidativo, exercendo também funções de modulação de enzimas envolvidas em processos anabólicos e catabólicos (García-García et al., 2020).

Por outro lado, os miRNAs são pequenas moléculas de RNA não codificante que contêm cerca de 22 nucleótidos, cuja principal função é a inibição da expressão de genes (Bussler et al., 2017). De facto, estas moléculas impedem a tradução do mRNA-alvo ou induzem a sua degradação, impedindo a formação de proteínas e, conseqüentemente, o desempenho das suas funções (García-García et al., 2020; Jordan et al., 2011). Recentemente, têm sido investigados devido ao seu papel fundamental na regulação de diversos eventos fisiológicos, como a biossíntese, secreção e ação da insulina, regulando também a sensibilidade à mesma (Bussler et al., 2017). Além disso, desempenham funções de regulação no metabolismo da glucose e dos lípidos, na função das células endoteliais e funcionam como moduladores a nível imunológico (Balasubramanyam et al., 2011; Zampetaki et al., 2010).

Nos últimos anos, tornou-se claro que os miRNAs, para além de se encontrarem implicados em funções fisiológicas normais e no desenvolvimento, também estão envolvidos em processos inflamatórios e em diversas patologias crónicas, como a diabetes, o cancro e as doenças cardiovasculares (García-García et al., 2020; Omran et al., 2013). Por exemplo, um estudo que envolveu mudanças dietéticas por parte de pacientes com síndrome metabólica, resultou em mudanças na expressão de Let-7b e miR-155-3p, sendo que estes miRNAs têm sido associados a doenças relacionadas com a síndrome metabólica, nomeadamente o cancro, processos aterogénicos e adipogénicos e outras patologias inflamatórias (Marques-Rocha et al., 2016). Outro estudo teve como resultado a evidência de que o silenciamento pós-transcricional de genes, nomeadamente através da sobreexpressão do miRNA miR-143, o qual atua inibindo a ativação da proteína cinase B pela insulina, conduziu a uma desregulação do metabolismo da glucose, pelo que este poderá ser considerado como um potencial alvo terapêutico na diabetes associada à obesidade (Jordan et al., 2011). Ficou ainda demonstrado noutro estudo que uma redução dos níveis de miR-146 se encontra associada a um aumento da resistência à insulina e da expressão de genes inflamatórios, com aumento da quantidade de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-6) em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (Balasubramanyam et al., 2011). Por último, foi demonstrada a diminuição dos níveis de

miR-126, a nível endotelial, em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (Zampetaki et al., 2010).

Assim, tendo em conta a crescente relevância associada à investigação dos miRNAs, pode-se concluir que estes constituem potenciais alvos terapêuticos, podendo ser úteis na diminuição do *stress* oxidativo na síndrome metabólica e doenças associadas (Włodarski et al., 2020).

2.6. *Stress* oxidativo, síndrome metabólica e doenças crónicas

A síndrome metabólica afeta cerca de 30% da população mundial e mais de um terço da população portuguesa adulta (Etchegoyen et al., 2018; Fundação Portuguesa de Cardiologia, 2016). Esta síndrome constitui um conjunto de fatores, os quais são responsáveis por um aumento do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como acidente vascular cerebral e ataque cardíaco, diabetes mellitus tipo 2, cancro, doença hepática não alcoólica e doenças neurológicas (Esposito et al., 2012; Etchegoyen et al., 2018; Jha et al., 2017). Encontra-se também associada à síndrome do ovário poliquístico (Pasquali, 2018) e a várias doenças autoimunes (LES, artrite reumatoide, entre outras) (Medina et al., 2018).

A síndrome metabólica é frequentemente caracterizada pela presença de obesidade central e pelo menos mais dois dos seguintes fatores:

- hiperglicemia em jejum (valor igual ou superior a 100 mg/dL);
- hipertensão arterial (valor igual ou superior a 135/85 mmHg);
- valor de lipoproteínas de alta densidade (HDL) abaixo do recomendado (HDL igual ou inferior a 40 mg/dL nos homens e a 50 mg/dL nas mulheres);
- valor de triglicéridos acima do limite considerado normal (valor igual ou superior a 150mg/dL) (Fundação Portuguesa de Cardiologia, 2016).

A síndrome metabólica tem como causa e como consequência o *stress* oxidativo (Włodarski et al., 2020). De facto, a fisiopatologia associada a esta síndrome compreende vários mecanismos e eventos, entre os quais se encontram, além do *stress* oxidativo, a resistência à insulina e a inflamação (Crescenzo et al., 2016; Etchegoyen et al., 2018; Jha et al., 2017). Além dos elevados custos para os sistemas de saúde a nível mundial, a síndrome metabólica reduz a qualidade e também a esperança média de vida dos indivíduos afetados pelo que, dada a sua elevada prevalência na população, é considerada

como um grave problema de saúde pública (Etchegoyen et al., 2018; Rask-Madsen & Kahn, 2012).

Tal como referido acima, as doenças cardiovasculares encontram-se associadas à síndrome metabólica, na qual se encontra presente um excesso de *stress* oxidativo. De facto, o excesso de ROS pode contribuir para as doenças cardiovasculares, através da diminuição da biodisponibilidade de NO bioativo, o qual exerce funções de regulação do tónus vascular (nomeadamente através da vasodilatação) e inibição da ativação plaquetária. Elevados níveis de ROS promovem a inativação do NO através da sua reação com o $O_2^{\cdot -}$, formando-se $ONOO^-$. Este, por sua vez, pode causar a disfunção da enzima eNOS, a qual passa a produzir $O_2^{\cdot -}$, o que contribui ainda mais para o *stress* oxidativo. Alguns estudos apontam para a possibilidade da hiperglicemia e da resistência à insulina, características da síndrome metabólica, estarem associadas à diminuição do NO bioativo no endotélio e à redução da atividade da eNOS. Por fim, a diminuição da capacidade de vasodilatação do sistema circulatório, a qual se pode traduzir em maior rigidez das artérias, constitui um fator de risco para o desenvolvimento de aterosclerose, enfarte e doença coronária (Grandl & Wolfrum, 2018; Ito et al., 2019).

A disfunção mitocondrial tem-se também revelado uma *hallmark* subjacente a diversas doenças complexas, uma vez que a desregulação no funcionamento das mitocôndrias pode conduzir a um excesso de *stress* oxidativo nas células, o que pode traduzir-se numa quebra do metabolismo bioenergético, inflamação e morte celular, sendo que todos estes aspetos se encontram presentes na síndrome metabólica (García-García et al., 2020). De facto, a disfunção mitocondrial tem sido associada a uma desregulação na sinalização da insulina na síndrome metabólica (nomeadamente através da diminuição da β -oxidação e acumulação de lípidos na célula), o que pode contribuir para a resistência a esta hormona e, conseqüentemente, para o desenvolvimento de patologias endócrinas e metabólicas, como a diabetes mellitus tipo 2 e a obesidade (Jha et al., 2017).

2.7. *Stress* oxidativo, inflamação e cancro

A importância do *stress* oxidativo e da inflamação crónica de baixo grau para o processo de mutagénese e desenvolvimento de neoplasias malignas (cancro) tem vindo a ser investigada. De facto, os efeitos das ROS e RNS no DNA das células pode traduzir-se em diversos tipos de alterações, nomeadamente quebras no DNA com potencial mutagénico, perda de bases azotadas nos nucleótidos e formação de aductos. Entre estes últimos,

destaca-se com mais relevância a 8-oxo-2'-desoxiguanosina (8-OHdG), a qual tem sido alvo de maior investigação (Ferguson, 2010).

Também a peroxidação lipídica, que resulta da interação de espécies reativas com lípidos, tem como resultado a formação de aldeídos reativos e citotóxicos com potencial mutagénico, nomeadamente o MDA, o 4-HNE e a acroleína, os quais podem reagir com as bases do DNA, formando aductos pró-mutagénicos. Desta forma, é possível concluir que o *stress* oxidativo e a inflamação crónica são fatores de enorme relevância para o desenvolvimento de mutações no ser humano e, conseqüentemente, podem levar ao desenvolvimento de doenças decorrentes da mutagénese (Figura 11) (Ferguson, 2010).

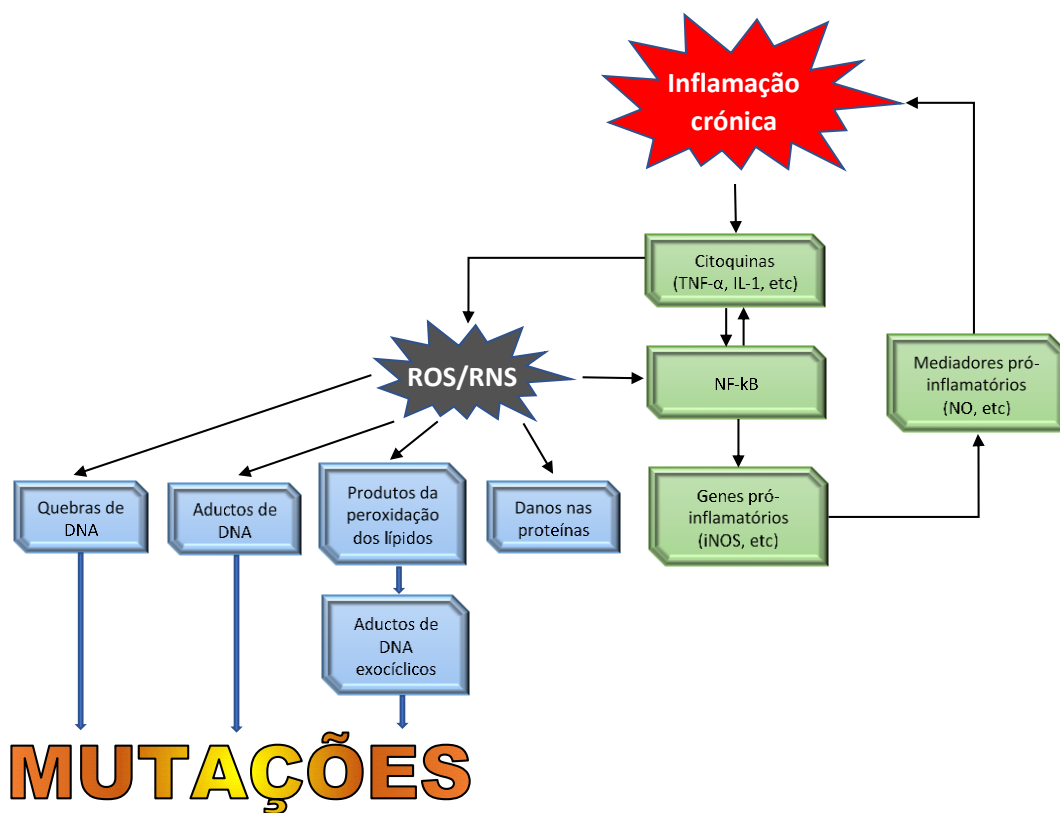


Figura 11. Papel do *stress* oxidativo e da inflamação crónica no desenvolvimento de mutações (adaptada de Ferguson, 2010).

Nas células cancerígenas, a disfunção mitocondrial e outras alterações metabólicas conduzem a um permanente estado de *stress* oxidativo, o que em condições não patológicas iria conduzir à morte celular. No entanto, este tipo de células altamente proliferativas consegue evitar a morte celular através da ativação de diversos oncogenes, os quais acabam por induzir a via antioxidante do NRF2 (Sharifi-Rad et al., 2020).

Desta forma, sendo o NRF2 um regulador da viabilidade celular e encontrando-se esta via permanentemente ativa em diversos cancros, é possível que as células cancerígenas

usem esta via para evitar a morte celular, protegendo-se das ROS e dos danos ao DNA, o que conduz à progressão da neoplasia maligna e à resistência a tratamentos como a quimioterapia e a radioterapia (Sharifi-Rad et al., 2020, Wu et al., 2019).

Assim, é possível concluir que, no caso do cancro, a ativação da via NRF2 tem um lado positivo e outro negativo, ou seja, se por um lado esta via oferece proteção antioxidante às células evitando a transformação maligna e o desenvolvimento do cancro, por outro lado, uma vez que este se encontre instalado, a ativação constitutiva da via NRF2 pode ser responsável pela resistência aos tratamentos, nomeadamente induzindo o rápido metabolismo dos fármacos ou através do seu efluxo (Ma, 2013; Zimta et al., 2019).

2.8. *Stress* oxidativo e doenças neurodegenerativas

A necessidade de produção de grandes quantidades de energia ao nível do cérebro, nomeadamente através do uso da glucose, torna o tecido nervoso especialmente suscetível à ação do *stress* oxidativo. De facto, este tem também sido associado ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, entre as quais se encontram a DA e a doença de Parkinson (DP), sendo que ambas se caracterizam pela deposição e acumulação de proteínas alteradas no cérebro (proteína β -amiloide e proteína α -sinucleína, respetivamente) (Jomova et al., 2010; Sharifi-Rad et al., 2020).

O desenvolvimento destas doenças associa-se muitas vezes ao envelhecimento, durante o qual ocorre diminuição da função da cadeia respiratória mitocondrial, aparecimento de mutações no DNA mitocondrial e alterações no metabolismo do cálcio (no qual as mitocôndrias estão envolvidas), sendo que estes eventos contribuem para a destruição progressiva de neurónios (Sharifi-Rad et al., 2020).

No sentido de se perceber melhor o papel do *stress* oxidativo na neurodegeneração, foram analisadas amostras de tecido cerebral *post-mortem* de indivíduos que sofriam de doenças neurodegenerativas, sendo que os resultados confirmaram a presença de moléculas de DNA, lípidos e proteínas oxidados (Sharifi-Rad et al., 2020). De facto, as ROS em excesso podem alterar proteínas e modificá-las para formas oxidadas, sendo que estas, ao evitar a sua própria degradação no proteossoma (organelo onde ocorre a degradação de proteínas disfuncionais), acumulam-se nas células, estimulando uma maior produção de ROS, num ciclo vicioso que ocorre em doenças neurodegenerativas (Sharifi-Rad et al., 2020). Assim, embora a fisiopatologia destas doenças pareça ser multifatorial, torna-se evidente que o fator base para o seu desenvolvimento é o *stress* oxidativo, sendo que esta afirmação é sustentada pela capacidade das ROS e das RNS provocarem

alteração direta das cadeias proteicas ou, de forma indireta, através dos produtos da peroxidação lipídica, como o MDA (Jomova et al., 2010).

A via do NRF2 desempenha um papel fundamental na eliminação de proteínas modificadas e na defesa antioxidante da célula, assim como na fisiologia das mitocôndrias. Ora, a ativação deste fator de transcrição demonstrou atenuar os efeitos de várias doenças neurodegenerativas, como a DA, a DP e a esclerose múltipla, sendo que a diminuição da função do NRF2, associada ao envelhecimento e diminuição da função mitocondrial, constitui um fator de risco para o desenvolvimento destas e de outras doenças neurodegenerativas (Holmström et al., 2016; Schmidlin et al., 2019).

III. Espécies antioxidantes

As substâncias antioxidantes são responsáveis pela eliminação das espécies oxidantes e dividem-se em antioxidantes enzimáticos e antioxidantes não enzimáticos. De facto, no que se refere ao grupo dos antioxidantes enzimáticos, este inclui as enzimas catalase (CAT), SOD, glutathiona peroxidase (GPx)/reductase (GR) e tioredoxina peroxidase (TPx)/reductase (TR). Relativamente aos antioxidantes não enzimáticos, estes incluem vitaminas (A, C, D, E), cofatores (CoQ10), minerais (zinco e selénio), melatonina, entre outros (Figura 12) (Su et al., 2019).

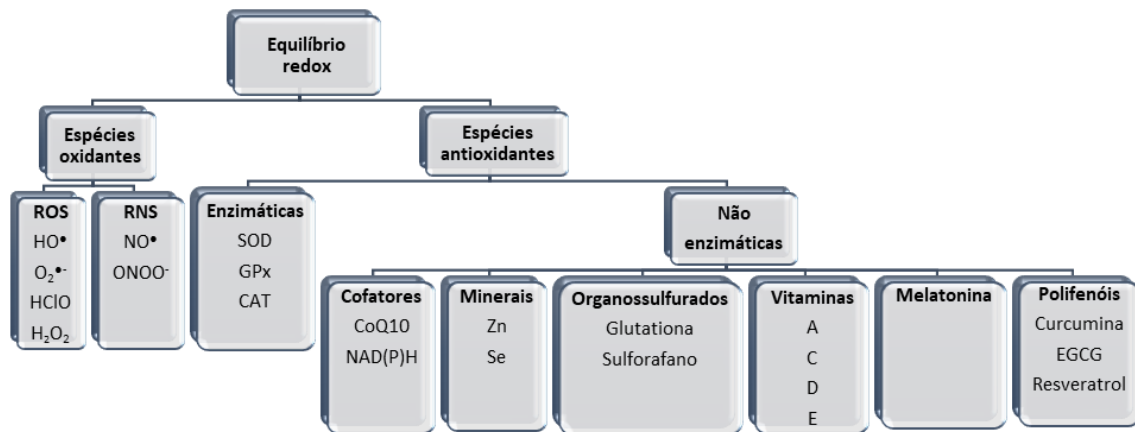


Figura 12. Exemplos de espécies oxidantes e antioxidantes (enzimáticas e não enzimáticas) envolvidas no equilíbrio redox.

3.1. Regulação do sistema antioxidante celular

Os intervenientes na regulação do sistema antioxidante celular, de acordo com a sua função, podem ser incluídos em dois grupos distintos: enzimas que eliminam ROS e fatores de transcrição antioxidantes. Como já mencionado, nas enzimas incluem-se, por exemplo, a SOD, a GPx e a CAT. Em condições normais, estas enzimas são produzidas constitutivamente em todas as células, como resultado da ação dos fatores de transcrição, como o coativador-1 α do recetor ativado pelo proliferador do peroxissoma (PGC1 α) e o NRF2, sendo que estas duas proteínas são responsáveis pela regulação de todo o sistema antioxidante ao nível da célula (Miller et al., 2017).

i. Via NRF2-ARE

O fator de transcrição NRF2, responsável pela regulação de vários genes ligados à capacidade antioxidante celular, constitui uma das principais linhas de defesa da célula

contra os efeitos nocivos do *stress* oxidativo, sendo que também tem sido implicado no metabolismo da glucose e dos lípidos (Heiss et al., 2013).

A regulação da capacidade antioxidante endógena das células dá-se após a ligação do NRF2 ao elemento de resposta antioxidante (ARE) na sua região de regulação (Miller et al., 2017). Em condições fisiológicas, a proteína 1 associada à ECH do tipo Kelch (Keap1) atua na inibição da ativação do NRF2 ao ligar-se a ele, impedindo a sua translocação para o núcleo (Cardozo et al., 2013; Williamson et al., 2012). De facto, o NRF2 é negativamente regulado pela Keap1, a qual constitui um substrato para o complexo E3-ubiquitina ligase responsável pela ubiquitinação e degradação do NRF2 (Villeneuve et al., 2010).

Por outro lado, em condições de *stress* oxidativo, ocorre a modificação oxidativa de uma das cisteínas da proteína Keap1 (Taha & Blaise, 2014), o que leva à separação do NRF2 e da proteína Keap1. Desta forma, o NRF2 desloca-se ao núcleo onde interage com a pequena proteína do fibrossarcoma musculoaponeurótico (MAF) e com proteínas coativadoras, ligando-se posteriormente ao ARE, nas zonas promotoras dos genes-alvo (Ohl et al., 2016) (Figura 13).

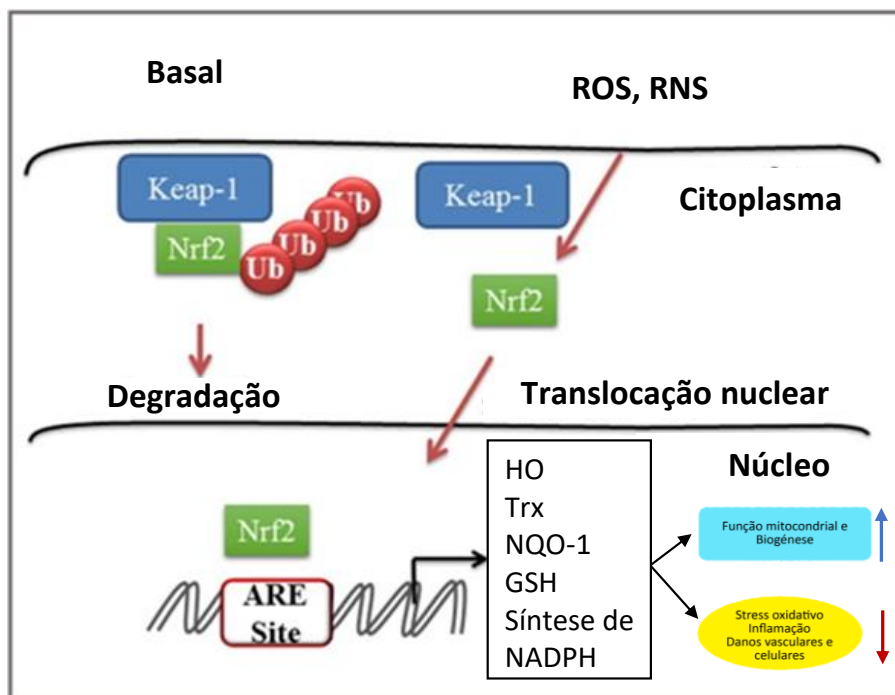


Figura 13. Ativação da via NRF2 e principais efeitos (adaptada de Ohl et al., 2016).

A ativação da via NRF2 pode também ocorrer por via de ativação de cinases que fosforilam o NRF2, permitindo a sua libertação da Keap1 e consequente translocação para o núcleo. No entanto, é de mencionar que, em situações patológicas, o NRF2 pode ser degradado no citoplasma após separação da proteína Keap1 (Taha & Blaise, 2014).

Os genes-alvo codificam diversas enzimas (como enzimas de fase 2) e proteínas antioxidantes implicadas no equilíbrio redox, como a heme oxigenase-1 (HO-1), a glutatona S-transferase (GST), a NAD(P)H quinona oxidoreductase 1 (NQO1), a GPx, a SOD e a UDP-glucuroniltransferase (Cardozo et al., 2013; Bocci & Vallacchi, 2015).

ii. Via NF- κ B

Além de induzir a expressão de genes que viabilizam a homeostasia e a sobrevivência da célula, o NRF2 também constitui um antagonista da ação do fator de transcrição nuclear NF- κ B, uma vez que este é responsável pela expressão de genes pró-inflamatórios (Cardozo et al., 2013). Em condições normais, o fator de transcrição NF- κ B encontra-se no citoplasma, onde interage com a proteína inibidora do NF- κ B (I κ B α), a qual inibe a sua translocação para o núcleo (Lingappan, 2018). Existem duas formas de ativação do NF- κ B: canónica e não canónica. A via canónica é a mais relevante e inicia-se com a ativação da I κ B cinase (IKK), em resposta a um aumento do *stress* oxidativo, o que conduz à fosforilação do I κ B α . Por sua vez, ocorre a ubiquitinação do I κ B α e a sua degradação no proteossoma, o que permite a libertação do NF- κ B e a sua translocação nuclear. No núcleo, o NF- κ B, em colaboração com coativadores, desencadeia a transcrição de vários mediadores inflamatórios, como TNF- α , IL-6, COX-2, molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), NOS induzível (iNOS) e IL-1 (Figura 14) (Ganesh Yerra et al., 2013; Sivandzade et al., 2019), estando também implicado na regulação do inflamassoma, um complexo proteico envolvido na resposta inflamatória.

Além disso, desempenha uma importante função na ativação, sobrevivência e diferenciação de células da imunidade inata e de células T inflamatórias. Estes fatores explicam a razão pela qual uma ativação descontrolada da via do NF- κ B contribui para a fisiopatologia de várias doenças inflamatórias, como LES, artrite reumatoide, esclerose múltipla, DPOC, diabetes mellitus tipo 1, doença inflamatória intestinal e aterosclerose (Liu et al., 2017).

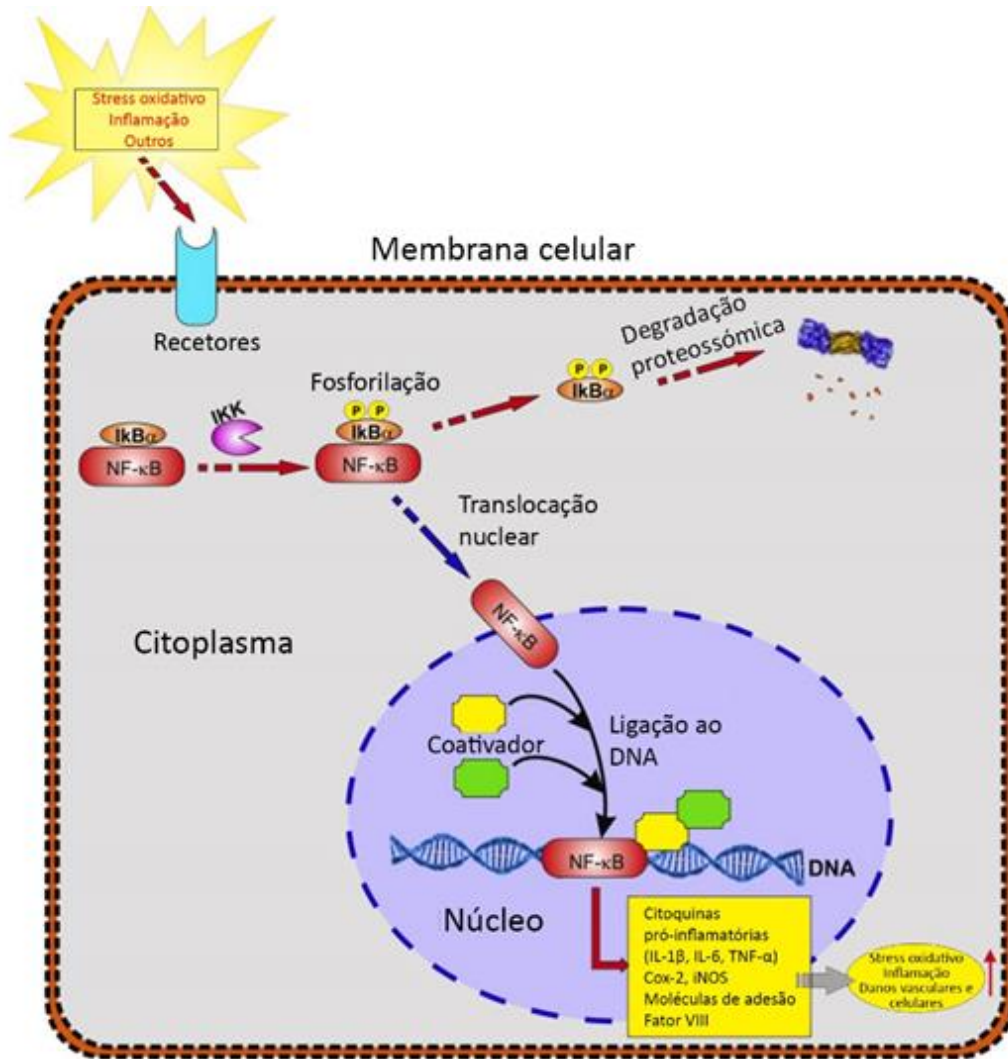


Figura 14. Ativação da via NF-κB e principais efeitos (adaptada de Sivandzade et al., 2019).

iii. Interação entre as vias NRF2 e NF-κB

Alguns estudos recentes sugerem que existe uma interação entre as vias NRF2 e NF-κB, com a ativação de NRF2 a levar à supressão de NF-κB e, por sua vez, a ativação de NF-κB a levar à supressão de NRF2 (Ahmed et al., 2017, Wardyn et al., 2015). Por outro lado, a ativação de uma das vias em detrimento da outra pode dever-se ao nível de stress oxidativo nas células. Quando o aumento do *stress* oxidativo é moderado (hormese), a via NRF2 é ativada, o que se traduz na transcrição de genes antioxidantes, assegurando a homeostasia intracelular. Por outro lado, quando o nível de *stress* oxidativo é mais elevado (distress), pode ocorrer a ativação da via NF-κB e originar inflamação (Figura 15) (Bocci & Valacchi, 2015; Sies & Jones, 2020).

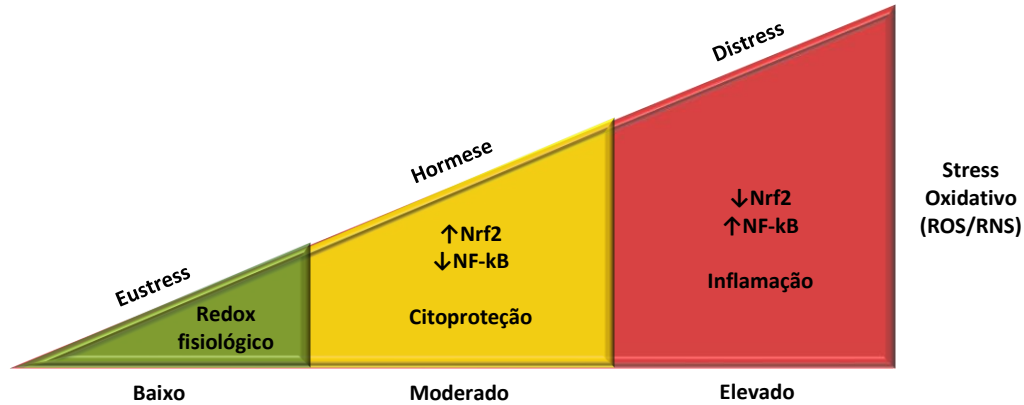


Figura 15. Ativação da via NRF2 ou da via NF-kB consoante o nível de *stress* oxidativo.

A ativação da via NF-kB conduz à transcrição de genes pró-inflamatórios, resultando na produção de vários mediadores de inflamação, como citocinas pró-inflamatórias. Além disso, o NF-kB liga-se competitivamente à proteína de ligação ao CREB (proteína de ligação ao elemento de resposta à adenosina monofosfato cíclica) (CBP), coativadora do NRF2, impedindo a sua ligação a este fator de transcrição. Promove também a ligação da histona desacetilase 3 (HDAC3) à proteína MAF, pelo que o heterodímero MAF-NRF2 não se forma. No seu conjunto, estes efeitos resultam na inibição da ativação da via NRF2 (Ahmed et al., 2017; Wardyn et al., 2015) (Figura 16), o que contribui para um maior aumento do *stress* oxidativo e da inflamação (Cuadrado et al., 2018; Lingappan, 2018; Liu, 2017; Sivandzade et al., 2019; Wardyn et al., 2015). De facto, a deleção do NRF2 tem sido relacionada com um aumento da inflamação, enquanto que a sua ativação tem sido associada a uma diminuição das respostas inflamatórias reguladas pela via NF-kB (Sivandzade et al., 2019).

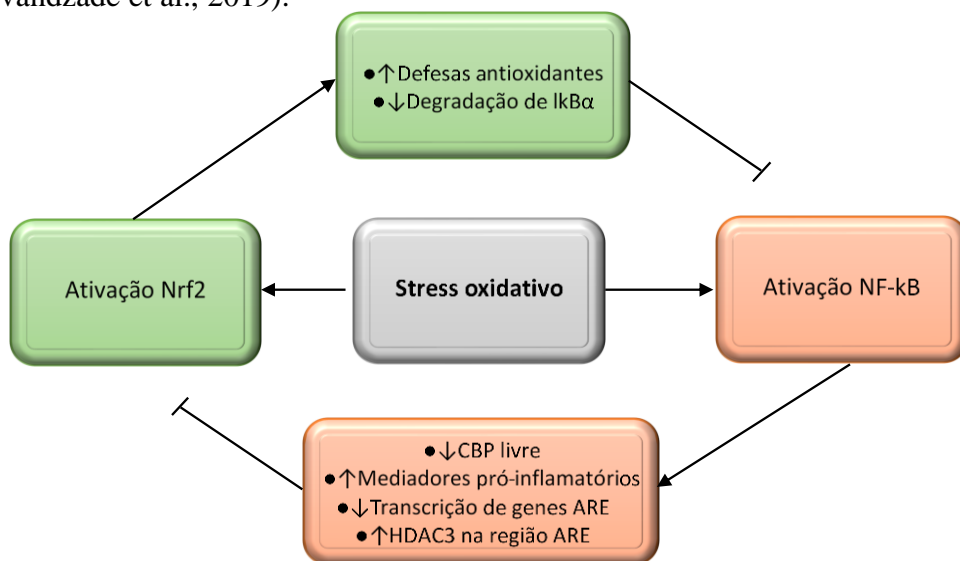


Figura 16. Interação entre as vias NRF2 e NF-kB (adaptada de Ganesh Yerra et al., 2013).

iv. Potencial terapêutico das vias NRF2 e NF- κ B na fisiopatologia de doenças crônicas

Como já referido, o expossoma pode ter influência no desenvolvimento de determinadas doenças, sendo que algumas pessoas serão mais suscetíveis geneticamente à ação de fatores ambientais como o *stress* emocional, a alimentação, o tabaco e o estilo de vida em geral. Estes fatores, também através de alterações epigenéticas, podem conduzir a uma disfunção do sistema imunitário, com a ativação de células inflamatórias e consequente produção de citocinas pró-inflamatórias, associada a uma excessiva produção de ROS. Este, por sua vez, irá levar à ativação de mais células inflamatórias, num autêntico ciclo vicioso. Por outro lado, o *stress* oxidativo contínuo a par da inflamação crónica, pode originar disfunção mitocondrial (Taha & Blaise, 2014). As ROS em excesso alteram várias proteínas, a nível da mitocôndria, de forma irreversível, podendo também ocorrer danos nos ácidos nucleicos mitocondriais. Isto leva a uma progressiva disfunção mitocondrial, a qual conduz a uma ainda maior produção de ROS e a um excesso de *stress* oxidativo, ocorrendo desregulação imunológica. Ora, o *distress* oxidativo pode também levar à ativação da via pró-inflamatória NF- κ B em detrimento da via anti-inflamatória NRF2, contribuindo para a progressão da inflamação crónica de baixo grau. O *stress* emocional, ao qual as pessoas estão sujeitas na sua vida quotidiana, e a alimentação, muitas vezes influenciada pelo próprio *stress*, são dois dos fatores externos que podem contribuir para a perpetuação da inflamação, através dos mecanismos já explorados (desregulação do eixo HPA e aumento de resistência aos corticoides, disbiose intestinal e endotoxemia, suscetibilidade a infeções, entre outros).

Assim, todos estes processos, em associação, podem estar na base da fisiopatologia de grande parte das doenças crónicas (responsáveis pela morte de 3 em cada 5 pessoas no mundo), como diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares, doenças autoimunes, doenças neurodegenerativas, fibromialgia, SFC/EM e cancro (Coskun Benlidayi, 2019; Favero et al., 2019; Ferguson, 2010; Furman et al., 2019; Glassford, 2017; Maes & Twisk, 2009; Minihane et al., 2015; Pahwa et al., 2020; Romano et al., 2015; Taha & Blaise, 2014; Tomas & Newton, 2018) (Figura 17).

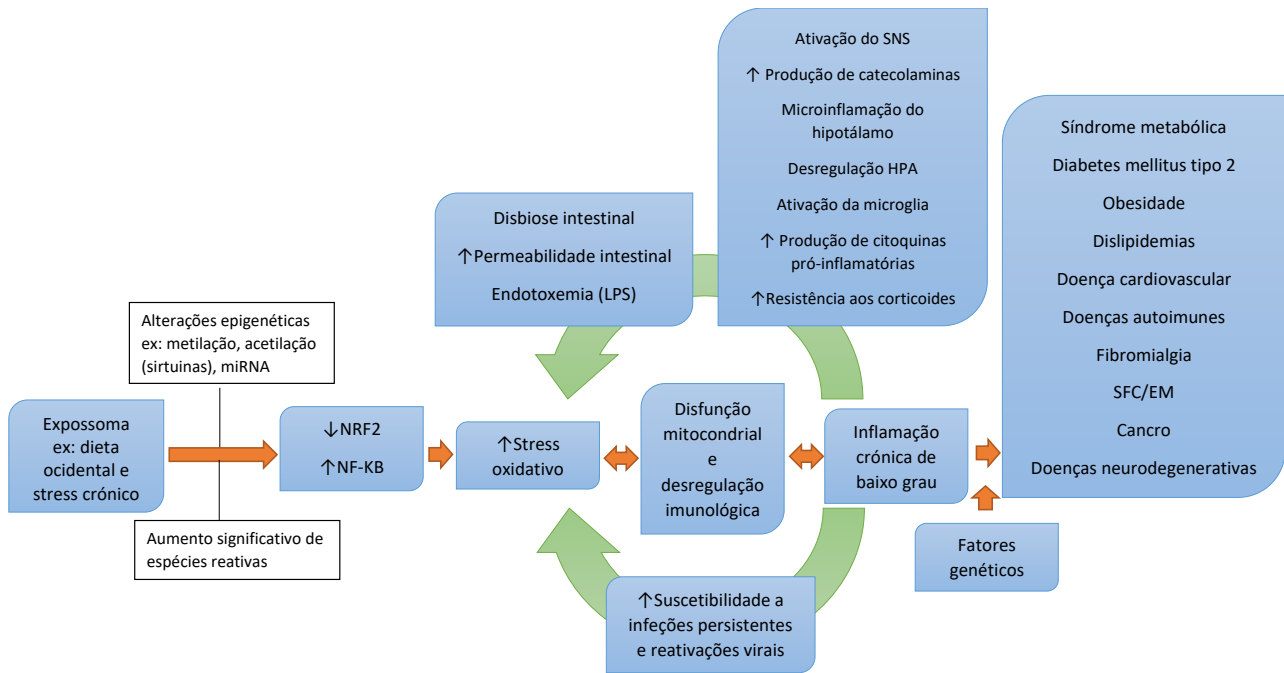


Figura 17. *Stress* oxidativo, inflamação crónica de baixo grau e diversos processos envolvidos na fisiopatologia de algumas doenças crónicas.

O fator de transcrição NRF2 é responsável pela expressão de genes importantes na resposta antioxidante celular, sendo que nos últimos anos tem sido demonstrado que a sua ativação pode mitigar o *stress* oxidativo, a inflamação e a disfunção mitocondrial, os quais, como já referido, se encontram presentes em várias doenças crónicas (Chartoumpakis & Kensler, 2013; Cuadrado et al., 2018; Cuadrado et al., 2019; Dodson et al., 2019; Holmström et al., 2016; Ma, 2013; Schmidlin et al., 2019; Taha & Blaise, 2014) (Figura 18). De facto, devido às suas propriedades citoprotetoras e anti-inflamatórias, o NRF2 encontra-se em estudo como possível alvo terapêutico no controlo e tratamento da inflamação presente em vários pacientes com a doença provocada pelo SARS-CoV-2 (COVID-19) (Bousquet et al., 2020; Cuadrado et al., 2020).

O NRF2 tem também genes-alvo com funções determinantes no que se refere a processos inflamatórios, crescimento celular, processo de degradação de moléculas por ubiquitinação, reparação do DNA e morte celular. Todas estas funções traduzem a importância fulcral deste fator de transcrição para a sobrevivência da célula, sendo que a sua função antioxidante tem demonstrado exercer uma ação protetora contra a inflamação e o envelhecimento, assim como contra diversas patologias (doenças neurodegenerativas, cancro, doenças cardiovasculares, fibrose pulmonar, LES, entre outras) (Gautam et al., 2020; Villeneuve et al., 2010).

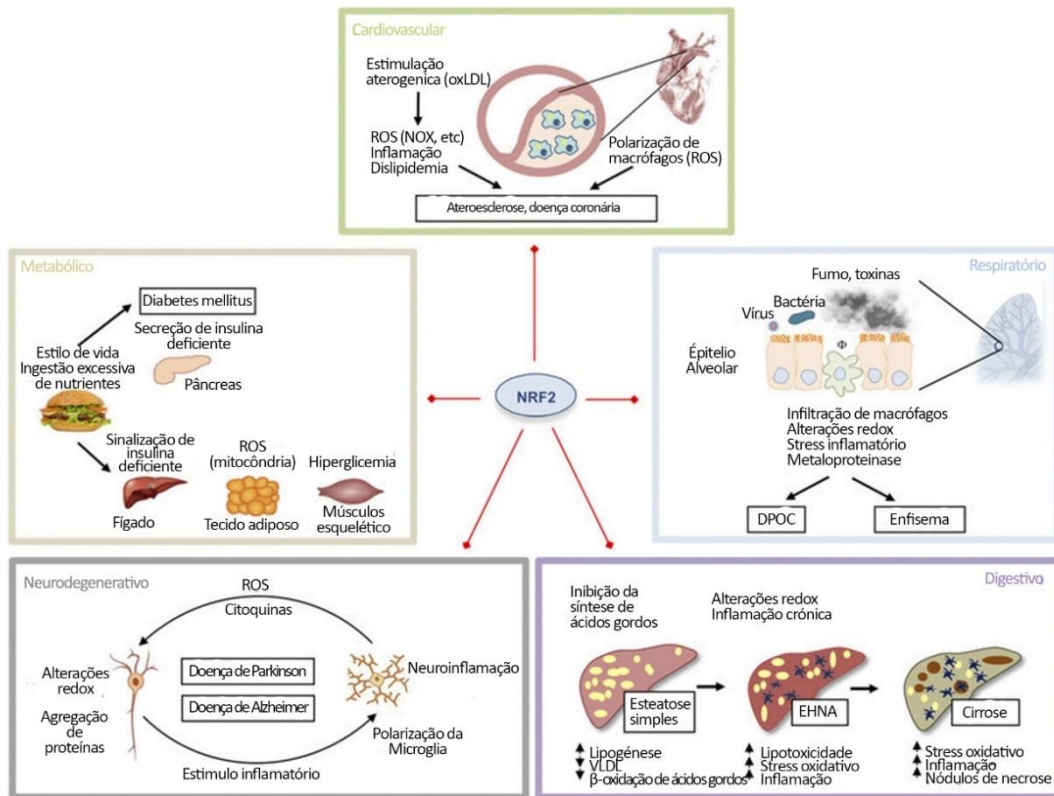


Figura 18. Papel protetor do fator de transcrição NRF2 em diversas doenças crónicas (adaptada de Cuadrado et al., 2018).

Como já demonstrado, o *stress* oxidativo e a inflamação encontram-se intimamente relacionados. Diversos estudos têm comprovado que ratinhos deficientes em NRF2 desenvolvem quadros mais graves de patologias de natureza inflamatória, muitas vezes induzidas experimentalmente, nomeadamente colite, sepsis, lesão pulmonar aguda, hepatite mediada por células T e asma. Ratinhos-fêmea com o gene NRF2 silenciado demonstraram uma tendência para o desenvolvimento de síndromes autoimunes com bastantes semelhanças ao LES presente em seres humanos (Ohl et al., 2016). De facto, um estudo recente teve como resultado a deteção de alterações na via antioxidante NRF2 em células dendríticas de pacientes com LES (Gautam et al., 2020). Ratinhos deficientes em NRF2 apresentaram uma maior severidade da encefalomielite autoimune experimental, o modelo animal mais próximo da esclerose múltipla humana. Neste estudo, a inativação do NRF2 traduziu-se num início mais rápido da doença e no desenvolvimento de um quadro mais grave da mesma, tendo sido observado um aumento da expressão de genes que codificam enzimas inflamatórias, citoquinas e quimiocinas nos ratinhos deficientes em NRF2. Os resultados deste estudo apoiam a hipótese de que o NRF2 consegue modular respostas autoimunes neuroinflamatórias, o que sugere que a

sua ativação poderá atenuar várias patologias neurodegenerativas nas quais a neuroinflamação está implicada (Johnson et al., 2010). Além disso, já se verificou que a resposta inflamatória e a ativação da microglia são mais pronunciadas no cérebro de ratinhos deficientes em NRF2, em resultado da presença de LPS, em comparação com animais no seu estado normal (Ohl et al., 2016).

Também a via NF-κB tem sido proposta como um possível alvo terapêutico no tratamento de patologias caracterizadas pela ocorrência de *stress* oxidativo e processos inflamatórios, uma vez que estas estão muitas vezes associadas a uma atividade desregulada da via NF-κB, como é o caso da artrite reumatoide, doença inflamatória intestinal, aterosclerose, esclerose múltipla, DPOC e do cancro (Greten & Grivennikov, 2019; Lingappan, 2018; Liu et al., 2017; Yu et al., 2020). Por último, tendo em conta o contexto da pandemia COVID-19 que atravessamos atualmente, torna-se importante referir que a inibição desta via tem sido proposta como forma de prevenir a inflamação exacerbada que esta doença promove em alguns doentes graves (Hariharan et al., 2020).

3.2. Suplementos que ativam a via NRF2 e que suprimem a via NF-κB

Explorado o papel das vias NRF2 e NF-κB na fisiopatologia de doenças crónicas associadas ao *stress* oxidativo e à inflamação, torna-se claro que a utilização de SA antioxidantes capazes de regular a ativação destas vias pode ser uma estratégia atrativa, sendo que muitos deles são de origem natural, podendo ser encontrados nos alimentos (Figura 19).

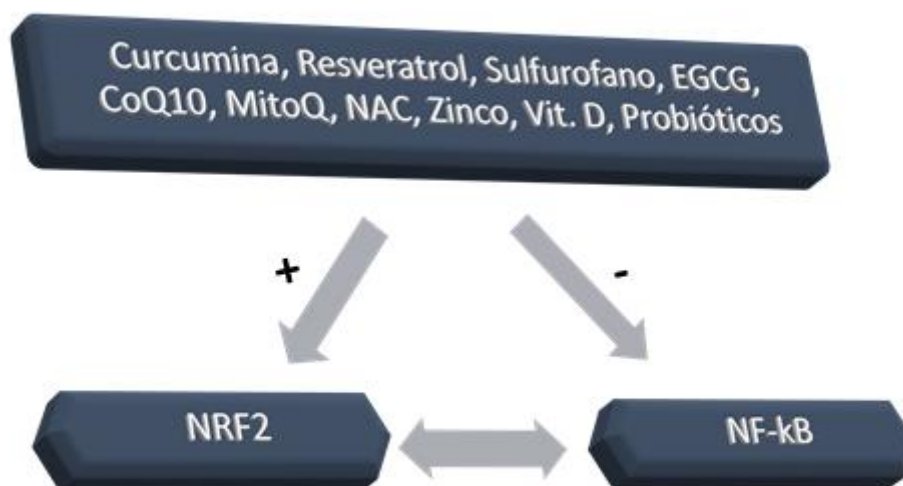


Figura 19. Exemplos de suplementos alimentares moduladores das vias NRF2 e NF-κB.

i. Curcumina

A curcumina pertence à família dos polifenóis (metabolitos secundários das plantas) e constitui o principal componente bioativo presente nos rizomas da planta *Curcuma longa*, sendo que vários estudos têm comprovado os seus efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, anti-aterogénicos, antimicrobianos, antivirais, antidiabéticos (melhoria da resistência à insulina), anticarcinogénicos e neuroprotetores (Bhattacharjee & Dashwood, 2020; Cardozo et al., 2013; Di Meo et al., 2020; Giordano & Tommonaro, 2019; Guo et al., 2020; Johnson & Johnson, 2015; Matzinger et al., 2018; Sivandzade et al., 2019). A descoberta destas propriedades tem levado ao crescente estudo do potencial terapêutico da curcumina em diversas patologias, nomeadamente doenças endócrinas, metabólicas, renais, neurológicas e no cancro (Cardozo et al., 2013).

De facto, tem-se verificado que a curcumina exerce uma forte ação antioxidante, nomeadamente através da ativação do NRF2 e consequente transcrição dos seus genes-alvo antioxidantes, o que poderá também estar relacionado com a regulação epigenética, nomeadamente através de metilação, da atividade deste fator de transcrição (Bhattacharjee & Dashwood, 2020; Sivandzade et al., 2019).

Por outro lado, vários estudos também demonstraram a capacidade da curcumina em inibir a ativação da via NF- κ B, o que se traduz numa diminuição da expressão dos seus genes-alvo e consequente diminuição da produção de mediadores pró-inflamatórios, como as citocinas TNF- α , IL-1 e IL-6 (Johnson & Johnson, 2015; Wang et al., 2018).

ii. Sulforofano

O sulforofano é um composto encontrado sobretudo nos brócolos, mas também noutros vegetais, como a couve de bruxelas, repolho e couve-flor. Este é produzido através da clivagem de um precursor organossulfurado, a glucorafanina, e apresenta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, neuroprotetoras, antidiabéticas, anti-aterogénicas, cardioprotetoras e anticancerígenas (Cuadrado et al., 2018; Matzinger et al., 2018; Ruhee & Suzuki, 2020). Diversos estudos têm sido realizados no sentido de se perceber melhor a utilidade deste composto no tratamento de algumas doenças crónicas, como o cancro, a diabetes mellitus tipo 2, o autismo, a asma e a doença renal crónica (Cuadrado et al., 2018).

Relativamente à sua ação antioxidante, a investigação nesta área tem comprovado a capacidade do sulforofano para ativar a via Keap-NRF2-ARE, levando à transcrição de genes cruciais à diminuição do *stress* oxidativo. Por outro lado, este composto também

tem demonstrado inibir a via pró-inflamatória NF- κ B, o que resulta numa diminuição da resposta inflamatória (Ruhee & Suzuki, 2020).

O sulforofano tem também potencial aplicação em doenças neurodegenerativas, tendo sido demonstrada a sua capacidade para atravessar a barreira hematoencefálica (o que aumenta a sua biodisponibilidade no cérebro) e de ativar a via NRF2. Além disso, é capaz de inibir a neuroinflamação induzida por LPS, através da diminuição da ativação da microglia, nomeadamente ao nível do hipocampo, e da redução de mediadores pró-inflamatórios, como TNF- α , IL-6 e iNOS (Cuadrado et al., 2018).

Este composto tem também a capacidade de melhorar o perfil lipídico, diminuir a resistência à insulina e aumentar a tolerância à glucose, sendo que estes efeitos têm sido associados à sua elevada biodisponibilidade (devido ao seu caráter lipofílico), à sua capacidade de ativação da via antioxidante NRF2 e à redução da produção de mediadores inflamatórios (inibição de NF- κ B) (Matzinger et al., 2018).

iii. Resveratrol

O resveratrol constitui um metabolito secundário das plantas e pertence à família dos polifenóis, sendo possível encontrar este composto nas uvas, no vinho tinto e nas bagas (mirtilos, amoras, entre outras). De facto, em diversos estudos, o resveratrol tem sido associado a propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, anti-aterogénicas, cardioprotetoras, hepatoprotetoras, neuroprotetoras, antidiabéticas, anti-obesidade, anticancerígenas e de proteção da função mitocondrial (Agarwal et al., 2013; Bhattacharjee & Dashwood, 2020; Cardozo et al., 2013; Farkhondeh et al., 2020; García-García et al., 2020; Johnson & Johnson, 2015; Ko et al, 2017; Yadav et al., 2018). De facto, devido a estas propriedades, este composto tem sido muito estudado, nomeadamente no que se refere à sua utilidade em algumas doenças crónicas, como diabetes mellitus, patologias cardiovasculares e doenças neurodegenerativas (Agarwal et al., 2013).

No que se refere à sua capacidade para diminuir o *stress* oxidativo nas células, o resveratrol tem demonstrado ser capaz de induzir a ativação do NRF2 (nomeadamente através da sua modulação epigenética, por exemplo ao nível da metilação), o que se traduz num aumento da produção de enzimas antioxidantes, como HO-1, NQO1, SOD e GST, e de glutatona nas células (Bhattacharjee & Dashwood, 2020; Cardozo et al., 2013; Morris et al., 2014). Por outro lado, um estudo demonstrou que o resveratrol pode induzir alterações nos perfis de miRNAs, sendo que este tipo de modulação epigenética pode

também explicar alguns dos efeitos anti-inflamatórios deste polifenol (García-García et al., 2020). Tal como referido anteriormente, as sirtuínas constituem uma família de enzimas desacetilases que possuem a capacidade de desacetilar histonas e também outros alvos celulares, sendo que, nos últimos anos, alguns estudos têm demonstrado a implicação destas enzimas na regulação redox e antioxidante de diversos processos celulares (Singh et al., 2018). Investigação recente nesta área demonstrou a capacidade do resveratrol para ativar a sirtuína 1 (Sirt1), que promove a ativação de várias vias de sinalização relacionadas com a resposta antioxidante e anti-inflamatória das células. Além disso, a ativação da Sirt1 está relacionada com um aumento da biogénese mitocondrial, a otimização do uso da glucose, a expressão de proteínas de *uncoupling* mitocondrial e o aumento da β -oxidação lipídica (García-García et al., 2020).

Por último, alguns dos efeitos benéficos do resveratrol podem também dever-se à sua capacidade de inibir a via NF-kB, o que justifica o seu uso em diversas patologias nas quais a inflamação se encontra presente (Ren et al., 2013; Yadav et al., 2018).

iv. Epigallocatequina-3-galato

A epigallocatequina-3-galato (EGCG) também pertence à família dos polifenóis e constitui a principal catequina do chá verde. Este composto possui propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, neuroprotetoras, antidiabéticas, anti-obesidade, anti-aterogénicas e anticancerígenas. Além disso, a sua capacidade de ativação da via NRF2 e de inibição da via NF-kB tem sido descrita em vários estudos, pelo que a EGCG, tal como outros polifenóis (resveratrol, curcumina), demonstra ter interesse terapêutico em diversas patologias, como doenças neurodegenerativas, doença renal e cancro (Almatroodi et al, 2020; Cardozo et al., 2013; Guo et al., 2020; Johnson & Johnson, 2015; Sivandzade et al., 2019).

v. Coenzima Q10

A Coenzima Q10 (CoQ10), também conhecida por ubiquinona, constitui uma molécula antioxidante de natureza lipofílica. Esta encontra-se presente na membrana interna da mitocôndria, onde está implicada na função da cadeia transportadora de eletrões, participando na síntese de ATP (Hernández-Camacho et al., 2018). Na sua forma ativa, conhecida por ubiquinol, a CoQ10 tem a capacidade de regenerar outras substâncias antioxidantes na sua forma oxidada, como é o caso das vitaminas C (Vit. C) e E (Vit. E), e de neutralizar espécies reativas. Por outro lado, a ubiquinona no seu estado oxidado é

“regenerada” ou reduzida por enzimas dependentes de NADP(H) (Sharifi-Rad et al., 2020).

Esta substância com propriedades de otimização da função mitocondrial tem demonstrado, em vários estudos, ter um valioso potencial terapêutico em patologias crônicas e sintomas relacionados com o *stress* oxidativo e a inflamação (principalmente quando ocorrem défices de CoQ10), como a fibromialgia, a SFC/EM, doenças neurodegenerativas, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, obesidade, dores de cabeça e hipertensão. Além disso, a CoQ10 desempenha também um importante papel no aumento da energia em geral e na otimização da função imunitária (Figura 20) (Gutierrez-Mariscal et al., 2020; Liguori et al., 2018; Morris et al., 2013; Saini, 2011).

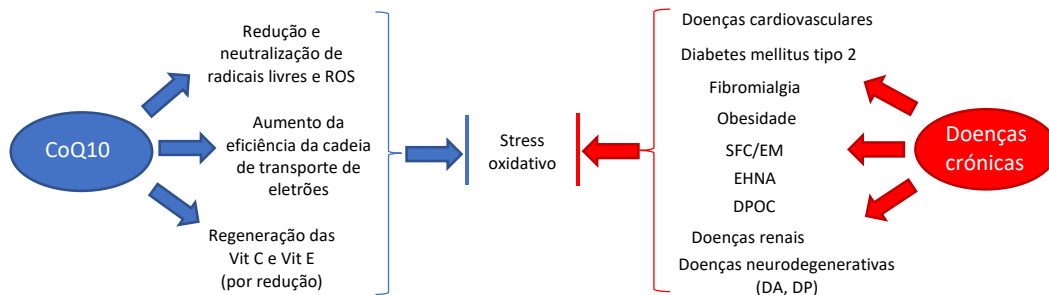


Figura 20. Propriedades da CoQ10 e potencial terapêutico em doenças crônicas associadas ao *stress* oxidativo (adaptada de Gutierrez-Mariscal et al., 2020).

Num estudo com ratinhos, ficou demonstrada a capacidade antioxidante e anti-inflamatória da CoQ10, nomeadamente através da ativação da via NRF2 e concomitante inibição da via NF-kB, o que demonstra o potencial deste composto no alívio de sintomas de doenças associadas ao *stress* oxidativo (Pala et al., 2016). De facto, em estudos sobre os efeitos da CoQ10 na fibromialgia foi observado que a suplementação com CoQ10 teve efeitos drásticos na redução de alguns sintomas clínicos da doença, como a dor, fadiga e má qualidade de sono (Cordero et al., 2013a). Além disso, verificou-se uma melhoria do estado de saúde dos pacientes, avaliada através do Questionário de Impacto da Fibromialgia (FIQ), um aumento de ATP e CAT para níveis próximos do grupo controlo e uma redução do biomarcador de *stress* oxidativo MDA, em células da medula óssea (BMCs), o que comprova o excesso de *stress* oxidativo e a natureza inflamatória desta patologia, assim como a relevância terapêutica da CoQ10 (Tabela 5) (Cordero et al., 2012).

Tabela 5. Efeitos da suplementação com CoQ10 em alguns parâmetros relacionados com a fibromialgia (adaptada de Cordero et al., 2012).

	Pré-tratamento (n=10)	Pós-tratamento (n=10)	Grupo de Controlo (n=15)
FIQ (0-100)	59,2	30,1	7,1
ATP (nmol/mg proteína)	61,3	191,1	202,8
CAT (U/mg proteína)	35,6	85,2	96,5
MDA em BMCs (nmol/milhão de células)	30,3	5,1	6

Nos últimos anos têm sido desenvolvidos alguns análogos da CoQ10, direcionados à otimização da função mitocondrial, como a mitoquinona (MitoQ) e a visomitina (SKQ1), os quais apresentam uma maior biodisponibilidade relativamente à primeira (Fetisova et al., 2019; Fink et al., 2012). De facto, existe pelo menos um estudo que propõe o seu uso no tratamento de pacientes que, após a infeção por SARS-CoV-2, desenvolvem um quadro com sintomas persistentes e duradouros, muito semelhante ao descrito pelos pacientes que padecem de SFC/EM (fadiga, dores, névoa cerebral, entre outros), pelo que o autor do estudo sugere o uso da MitoQ no sentido de diminuir a disfunção mitocondrial e o excesso de *stress* oxidativo, possivelmente presentes no que poderá vir a ser considerada uma forma crónica da doença (Wood et al., 2020). No que se refere à SFC/EM, doença neuroimunológica de difícil diagnóstico, num estudo realizado em 2011, verificou-se a existência de alterações imunológicas que poderiam ser usadas como biomarcadores (Brenu et al., 2011). Esta descoberta pode ter estado na origem do desenvolvimento de um modelo matemático, em 2018, capaz de diagnosticar 3 em cada 4 pacientes com esta patologia, o que poderá representar um valioso avanço no diagnóstico desta doença (Rivas et al., 2018), tendo em conta o vasto conjunto de sintomas que se podem manifestar (Carruthers et al., 2011).

Por último, um artigo de revisão de 2020, explora o potencial terapêutico da MitoQ, através da modulação de vias como NRF2 e NF- κ B, no tratamento da disfunção mitocondrial associada à síndrome metabólica (Yang et al., 2020).

vi. Melatonina

A melatonina é uma hormona de natureza anfifílica, sintetizada na glândula pineal, e que se encontra implicada no ritmo circadiano. Esta apresenta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, neuroprotetoras, imunomoduladoras, antidiabéticas e cardioprotetoras (Ahmadi & Ashrafizadeh, 2020; Kostoglou-Athanassiou, 2013; Liguori et al., 2018; Lin et al., 2013; Miller et al., 2017; Pourhanifeh et al., 2020). De facto, a suplementação com este composto tem sido associada à melhoria de sintomas em diversas doenças autoimunes, como o LES e a esclerose múltipla, tanto em modelos animais como em alguns ensaios clínicos (Lin et al., 2013). O potencial terapêutico desta hormona tem também sido estudado no alívio de sintomas da fibromialgia e da SFC/EM, doenças nas quais a disfunção mitocondrial, o *stress* oxidativo e a inflamação crónica de baixo grau se encontram implicados (Coskun Benlidayi, 2019; Hemati et al., 2020; Morris et al., 2019).

A melatonina demonstrou também capacidade para ativar a via NRF2 e inibir a via NF- κ B, o que explica algumas das suas propriedades, nomeadamente ao nível da diminuição do *stress* oxidativo e inflamação crónica de baixo grau, demonstrando ser benéfica na melhoria de algumas patologias crónicas (Ahmadi & Ashrafizadeh, 2020; Kostoglou-Athanassiou, 2013; Negi et al., 2011).

vii. N-acetilcisteína

A N-acetilcisteína (NAC) constitui um precursor da glutathione. É um organossulforado presente na cebola e possui capacidade antioxidante, nomeadamente através da eliminação direta de ROS e da regeneração da glutathione oxidada, aumentando assim os níveis de glutathione reduzida nas células. Esta, por sua vez, é um tripéptido substrato de diversas enzimas antioxidantes, que se encontra presente em todas as células, e tem também capacidade de eliminação direta das ROS (Aldini et al., 2018; Šalamon et al., 2019; Sharifi-Rad et al., 2020). Desde há vários anos que a NAC é utilizada como antídoto na intoxicação por paracetamol e como substância mucolítica, no tratamento de várias patologias (Elbini Dhouib et al., 2016). No entanto, mais recentemente, surgiram estudos relativamente ao potencial terapêutico da NAC em patologias crónicas e sintomas nos quais se encontra implicado o *stress* oxidativo, nomeadamente doenças neurodegenerativas (como a DA), SFC/EM, dor neuropática, asma, doença inflamatória intestinal, obesidade, resistência à insulina e algumas doenças cardiovasculares (Šalamon et al., 2019). A NAC demonstrou ainda ser capaz de modular as vias NRF2 e NF- κ B, o

que poderá também contribuir para a sua elevada capacidade antioxidante (Pan et al., 2018; Wu et al., 2014; Zhou et al., 2018).

viii. Zinco

O zinco é um micronutriente presente em todas as células e desempenha várias funções essenciais para o crescimento e desenvolvimento do organismo. Este elemento, tal como o selénio, desempenha um papel crucial na função imunitária, tanto no que se refere à resposta inata como à resposta adaptativa (Amir Aslani & Ghobadi, 2016).

O zinco intervém também no metabolismo das proteínas, da glucose e dos lípidos, ajudando ainda a regular a produção, armazenamento e libertação da insulina. Vários estudos têm comprovado que a suplementação com zinco pode diminuir os níveis elevados de glucose sanguínea e a resistência à insulina associadas à síndrome metabólica e à obesidade, além de poder auxiliar na diminuição da pressão arterial e dos níveis de colesterol das lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) (Olechnowicz et al., 2018). Por outro lado, a deficiência em zinco está associada a uma desregulação do processo de fagocitose por neutrófilos e macrófagos, assim como à diminuição da atividade das células *Natural Killer* e aumento do *stress* oxidativo a nível celular (Amir Aslani & Ghobadi, 2016; Rolles et al., 2018).

O zinco apresenta funções de regulação do *stress* oxidativo e de controlo da inflamação crónica de baixo grau, os quais, como já referido, estão envolvidos em diversas doenças crónicas. De facto, este elemento possui capacidade antioxidante através de diversos mecanismos, como a participação na síntese de enzimas antioxidantes (por ativação da via NRF2) e enquanto cofator de algumas dessas enzimas. Tem ainda a capacidade de diminuir a atividade de enzimas pró-oxidantes, como a NOX, reduzindo os níveis de produção de $O_2^{\cdot-}$, e de induzir a síntese de metalotioneínas (proteínas implicadas na regulação da concentração de iões metálicos nas células), inibindo a reação de Fenton e, consequentemente, diminuindo os níveis do radical HO^{\cdot} (extremamente reativo). Desta forma, ao intervir em diversos mecanismos antioxidantes, o zinco demonstra ser capaz de impedir o dano oxidativo a diversas estruturas celulares, como as proteínas, o DNA e os lípidos. Além disso, diminui a ativação da via pró-inflamatória NF-kB, o que conduz a uma diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1, IL-6), de moléculas de adesão, como a ICAM-1 e a molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1), e da ativação de enzimas implicadas na inflamação, como a COX-2 (Figura 21) (Olechnowicz et al., 2018).

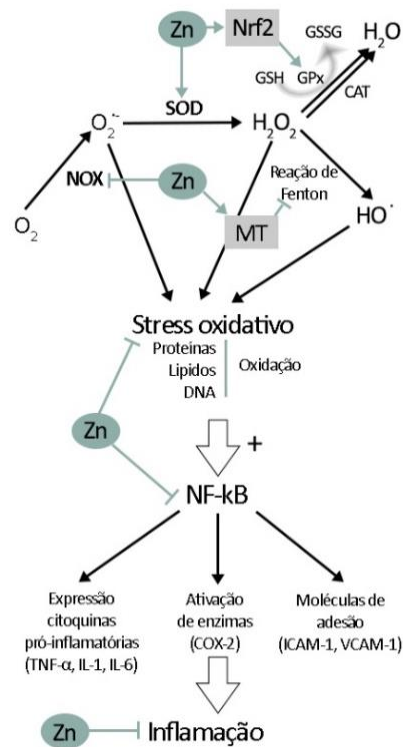


Figura 21. Mecanismos antioxidantes do zinco (adaptada de Olechnowicz et al., 2018).

No caso da diabetes mellitus tipo 2, a exposição crónica a mediadores inflamatórios associados ao *stress* oxidativo, como as citocinas IL-1 β e IL-6, pode a longo prazo resultar na apoptose das células β do pâncreas, responsáveis pela produção de insulina, assim como conduzir a um aumento da resistência a esta hormona e, conseqüentemente, a um aumento da glucose no sangue (Olechnowicz et al., 2018; Rains & Jain, 2011).

Por último, em contexto da pandemia de COVID-19 que atualmente atravessamos, vários autores têm proposto a suplementação de zinco, o qual, devido às suas propriedades antivirais, antioxidantes e anti-inflamatórias poderá ter potencial na prevenção da COVID-19 e até alguma utilidade no tratamento da doença (como coadjuvante terapêutico), principalmente em pessoas com deficiência deste micronutriente (Joachimiak, 2021; Jothimani et al., 2020; Kumar et al., 2020; Pal et al., 2020; Wessels et al., 2020). O interesse terapêutico do zinco na COVID-19 tem sido explorado em vários ensaios clínicos, em doses, número de administrações diárias e duração de tratamento variáveis, quer isolado quer em combinação com outros SA (Pal et al., 2020). Um exemplo disso é a combinação de 15 mg de zinco elementar (na forma de gluconato) duas vezes ao dia, durante 2 meses, com 2000 UI diárias de Vitamina D3

(Identificador ClinicalTrials.gov: NCT04351490), tirando partido das propriedades anti-inflamatórias e imunomoduladoras de ambos os micronutrientes (Pal et al., 2020).

Existem grupos com maior risco de deficiência em zinco, quer por ingestão diária insuficiente (idosos, baixo consumo de proteína animal, entre outros) quer por maiores necessidades biológicas (na gravidez e amamentação, crianças, pessoas com determinadas doenças crónicas, entre outros), estimando-se que mais de 17% da população global tenha carência nutricional deste micronutriente (Arentz et al., 2020). Em adultos, a dose considerada segura, que corresponde ao nível sem efeitos adversos observáveis (NOAEL), é de 50 mg/dia (Arentz et al., 2020), tendo-se verificado que doses elevadas (300 mg/dia) administradas ao longo de 6 semanas podem afetar a resposta imunológica, por alteração da função dos linfócitos e neutrófilos (Pal et al., 2020).

Assim, fica clara a importância de níveis adequados de zinco para o correto funcionamento metabólico e imunológico do organismo, assim como o seu crescente interesse na prevenção e combate à COVID-19.

ix. Vitamina D

A vitamina D é um micronutriente lipossolúvel e uma hormona com ação antioxidante, anti-inflamatória e imunomoduladora que se encontra presente, de forma natural, em alguns alimentos (como os ovos, alguns peixes e laticínios), podendo apresentar-se na forma de vitamina D3 (colecalciferol) e vitamina D2 (ergocalciferol), cujo precursor é o ergosterol. A maioria da vitamina D no organismo é sintetizada através da exposição à radiação solar, a qual desencadeia várias reações que culminam com a transformação do precursor 7-desidrocolesterol na vitamina D3, sendo que esta é posteriormente convertida no organismo a calcitriol, a forma ativa da vitamina D (Christakos et al., 2010; Dereje et al., 2017; Murdaca et al., 2019; Swami et al., 2012).

Através de ligação ao recetor da vitamina D, presente em quase todas as células, este micronutriente encontra-se implicado em diversas funções do organismo, como a homeostasia e metabolismo do cálcio e do fosfato, a saúde óssea, a função imunitária e a regulação do *stress* oxidativo das células, nomeadamente ao controlar a transcrição de proteínas (ao nível da mitocôndria e do núcleo) envolvidas no funcionamento da cadeia respiratória e síntese de ATP (García-García et al., 2020).

A deficiência de vitamina D tem sido associada a diversas patologias inflamatórias crónicas (diabetes, doença cardiovascular, doenças neurológicas, hipertensão arterial) e a outras patologias nas quais se encontra presente a fadiga (cancro, SFC/ME, fibromialgia

e algumas doenças autoimunes, como a esclerose múltipla), sendo que a sua suplementação tem demonstrado efeitos benéficos em algumas delas (Basit, 2013; de Carvalho et al., 2018; Höck, 2014; Hoeck & Pall, 2011; Holick, 2017).

Estudos muito recentes demonstraram a capacidade da vitamina D para modular a via antioxidante NRF2 e inibir a via pró-inflamatória NF- κ B, o que contribui para a diminuição do *stress* oxidativo e da inflamação (Ali et al., 2021; Hosseinirad et al., 2021; Nakai et al., 2014). De facto, a administração de vitamina D a ratinhos resultou na ativação da proteína Sirt1 (modulador epigenético da expressão do NRF2), na ativação da via NRF2 (com consequente aumento dos níveis da enzima HO-1), e na diminuição da expressão de NF- κ B, o que se traduziu numa diminuição das citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-1 β (Ali et al., 2021).

Tendo em conta o contexto atual de pandemia COVID-19, devido às propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e imunomoduladoras da vitamina D, a suplementação com esta hormona imunoreguladora tem sido considerada, em alguns estudos, como uma forma de prevenção e de tratamento da inflamação exacerbada que se observa em alguns pacientes infetados com SARS-CoV-2 (Bergman, 2021; Grant et al., 2020; Mercola et al., 2020; Xu et al., 2020), sendo importante referir que níveis reduzidos de vitamina D têm sido associados a quadros mais graves de COVID-19 (Benskin, 2020; Liu et al., 2021). Por isso mesmo, alguns autores recomendam que pessoas em maior risco de contrair a infeção por SARS-CoV-2 tomem 10000 Unidades Internacionais (UI)/dia de vitamina D3, durante algumas semanas, e depois reduzam a dose para 5000 UI/dia, com o objetivo de se atingir níveis sanguíneos na ordem dos 40-60 ng/mL e de reduzir o risco de infeção, sendo que doses mais elevadas podem ser consideradas em pessoas já infetadas com o vírus (Grant, 2020). De facto, estudos anteriores à COVID-19 já tinham demonstrado que o risco de contrair determinadas infeções respiratórias pode ser diminuído através da suplementação com vitamina D, sendo que a dose considerada ótima varia entre 1000 e 4000 UI/dia, considerando-se seguro a toma por via oral de suplementos de vitamina D até 10000 UI diárias durante curtos períodos de tempo (Benskin, 2020; Ferder et al., 2020).

Ora, a COVID-19 está muitas vezes associada à ocorrência de uma resposta inflamatória exacerbada conhecida por “tempestade de citocinas”, tendo-se verificado que a deficiência de vitamina D pode contribuir para este processo. Por comparação com a severidade da doença provocada pelo vírus da dengue, na qual já foram demonstrados os benefícios da vitamina D, verificou-se que 4000 UI durante 10 dias eram

significativamente mais eficazes na redução da replicação do vírus e controlo dos danos provocados pelas citocinas pro-inflamatórias do que 1000 UI, pelo que essa dose pode também ser eficaz no combate à inflamação decorrente da infeção por SARS-CoV-2 (Benskin, 2020).

Importa ainda referir que a suplementação com vitamina D torna-se particularmente relevante em idosos, pois estes apresentam com frequência carência de vitamina D, sendo recomendada a ingestão de pelo menos 1500 UI diárias para que se alcancem níveis adequados deste nutriente. Tendo isto em conta, num ensaio clínico recente estão a ser administradas doses orais mais elevadas (400 000 UI de uma só vez) para estudar os efeitos da suplementação com vitamina D no prognóstico da COVID-19 em pessoas com mais de 65 anos (Annweiler et al, 2020).

Assim, verifica-se que existe muita controvérsia quanto à dose de suplementação mais adequada, podendo esta depender de múltiplos fatores (idade, peso, exposição solar, entre outros) que influenciam as necessidades e a capacidade de produção de vitamina D ativa de cada indivíduo (Benskin, 2020; Ferder et al, 2020). No entanto, é possível concluir que este micronutriente é bem tolerado e demonstra ter interesse terapêutico na prevenção e combate à severidade da COVID-19, algo de elevada relevância para a saúde pública atual, uma vez que a vacina não se encontra ainda acessível a toda a população.

x. Probióticos

A microbiota intestinal desempenha várias funções no organismo, entre as quais se encontram a síntese de vitamina K, digestão de alimentos, modulação imunológica, regulação da expressão genética no hospedeiro (mecanismos epigenéticos) e prevenção da proliferação de microorganismos patogénicos (Żółkiewicz et al., 2020).

O desequilíbrio na composição da microbiota do intestino (devido a vários fatores do exossoma, como stress, dieta ocidental rica em açúcares simples e gorduras saturadas e *trans*, privação do sono e uso prolongado de antibióticos) denomina-se disbiose, fenómeno que tem sido atribuído a várias causas, como perda de microorganismos benéficos, menor diversidade da microbiota e crescimento excessivo de bactérias potencialmente patogénicas. Esta alteração na microbiota traduz-se em alterações na produção de metabolitos (ligados à regulação epigenética), numa elevada produção de ácidos gordos de cadeia curta (SCFA) (o que promove a lipogénese) e num aumento da permeabilidade intestinal (Cuevas-Sierra et al., 2019). No que se refere à permeabilidade intestinal, a disbiose provoca a quebra das junções intercelulares do epitélio intestinal, o

que promove a translocação de LPS, com consequente endotoxemia e aumento do *stress* oxidativo e inflamação. Todos estes eventos contribuem para o desenvolvimento de diversas patologias, sinais e sintomas, como obesidade, dislipidemia, inflamação, resistência à insulina, aterosclerose, doença hepática não alcoólica, depressão, diabetes mellitus tipo 2, SFC/EM e doença inflamatória intestinal (Figura 22) (Cuevas-Sierra et al., 2019; Kirichenko et al., 2020; Proal & Marshall, 2018; Slyepchenko et al., 2017).



Figura 22. Principais causas da disbiose intestinal, possíveis consequências e patologias desenvolvidas (adaptada de Cuevas-Sierra et al., 2019).

De facto, no que se refere ao desenvolvimento da aterosclerose, fator de risco para as doenças cardiovasculares, verifica-se que a microbiota intestinal se encontra associada à disfunção mitocondrial, através da regulação da expressão de genes, o que em associação com a endotoxemia por LPS e a acumulação de metabolitos microbianos como o N-óxido de trimetilamina (TMAO), conduz à inflamação. De facto, o TMAO tem sido associado à aterogénese através de diversos processos, como alterações do metabolismo lipídico (nomeadamente através da acumulação de lípidos nos vasos sanguíneos), disfunção endotelial, redução do transporte reverso do colesterol para o fígado e aumento do LDL-c. Estes eventos, em associação com a atividade pró-inflamatória dos macrófagos ativadas (devido à inflamação por LPS e TMAO), a disfunção mitocondrial (que também induz a ativação de células imunológicas) e o aumento do *stress* oxidativo, que resulta do

mau funcionamento das mitocôndrias e da atividade de células imunológicas ativadas devido à inflamação (como os macrófagos), conduzem ao desenvolvimento da placa aterosclerótica (Figura 23) (Kirichenko et al., 2020).

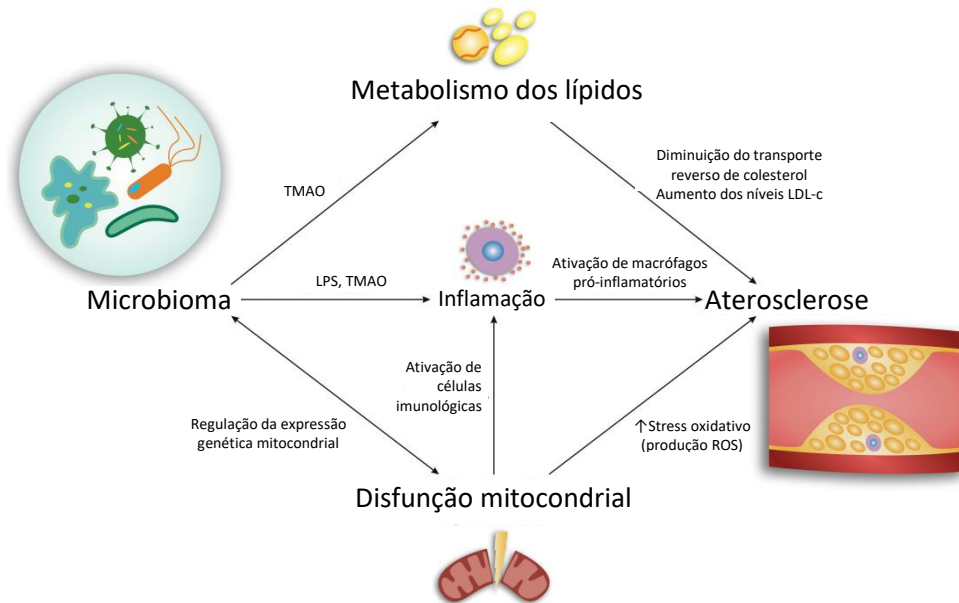


Figura 23. Desenvolvimento de aterosclerose na sequência de alterações da microbiota intestinal (adaptada de Kirichenko et al., 2020).

Os probióticos (como os *Lactobacillus* e os *Bifidobacterium*) constituem microorganismos vivos, os quais oferecem efeitos benéficos para a saúde do hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas. Por outro lado, os prebióticos, como a lactulose e a inulina, constituem alimento para esses mesmos microorganismos (Żółkiewicz et al., 2020).

Recentemente, surgiram os posbióticos e os paraprobióticos. Os posbióticos são definidos como produtos metabólicos (como enzimas e SCFA) ou fragmentos bacterianos, os quais possuem a capacidade de exercer uma ação benéfica no organismo hospedeiro. Já os paraprobióticos constituem células mortas de probióticos. Os pósbióticos e os paraprobióticos possuem várias vantagens relativamente aos probióticos, nomeadamente maior especificidade no mecanismo de ação, maior disponibilidade dos mesmos na forma original (antes da administração) e maior facilidade de produção à escala industrial. Desta forma, entre as várias propriedades dos pósbióticos e dos parabióticos destacam-se: diminuição do *stress* oxidativo, efeito anti-inflamatório e imunomodulador, preservação da integridade da barreira intestinal, efeito antiviral, anti-

hipertensivo, anticolesterolémico e anticancerígeno (Nataraj et al., 2020; Żółkiewicz et al., 2020).

Além disso, estudos recentes demonstraram a capacidade dos probióticos para modular as vias NRF2 e NF- κ B, assim como para quelar certos iões metálicos, como o Fe^{2+} (envolvido na reação de Fenton), eliminar ROS e regular a produção de enzimas antioxidantes, o que pode explicar os efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios associados ao seu consumo (Figura 24) (Bhardwaj et al., 2020; Feng & Wang, 2020).

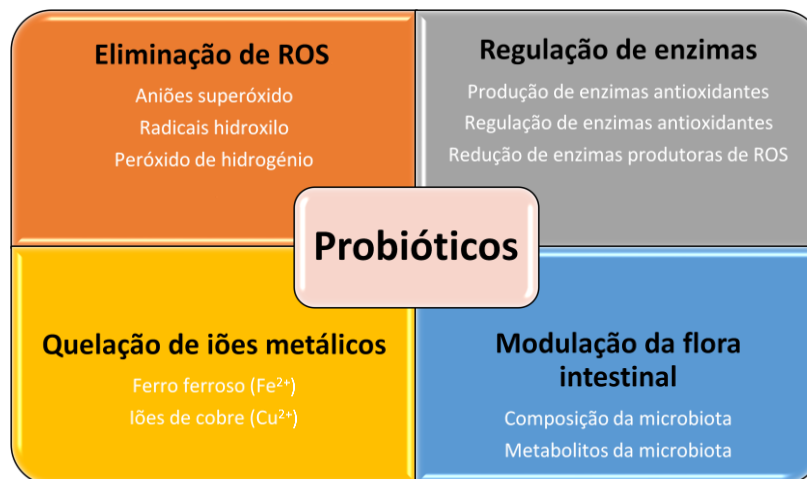


Figura 24. Efeitos antioxidantes dos probióticos (adaptada de Feng & Wang, 2020).

Conclusão

As doenças crónicas inflamatórias constituem um peso para os sistemas nacionais de saúde de todo o mundo, assim como comprometem a qualidade e a esperança média de vida das pessoas afetadas.

O estilo de vida da sociedade moderna, baseado em elevados níveis de *stress* (horários para cumprir, trânsito, deveres familiares), em combinação com a má alimentação muitas vezes associada à falta de tempo no quotidiano, tem contribuído de forma efetiva para o desenvolvimento de várias patologias crónicas, como diabetes mellitus, dislipidemias, hipertensão arterial, doenças neurodegenerativas, entre muitas outras já referidas, nas quais o *stress* oxidativo e a inflamação crónica de baixo grau se encontram implicados.

Assim, o conceito de Medicina proativa abordado neste trabalho, o qual defende o uso de nutracêuticos para a prevenção ativa e possível controlo de certas doenças crónicas, ganha uma nova importância e dimensão. Dada a relevância das vias anti-inflamatória NRF2 e pró-inflamatória NF-kB na fisiopatologia das doenças referidas, o uso de SA capazes de ativar e/ou suprimir, respetivamente, cada uma destas vias, pode sem dúvida constituir uma excelente abordagem no que se refere à prevenção e possível controlo de algumas doenças crónicas inflamatórias.

Por último, convém referir a importância do farmacêutico comunitário no aconselhamento e dispensa de nutracêuticos/suplementos alimentares, uma vez que estes produtos quando usados de forma não adequada, podem constituir um risco para a saúde dos seus consumidores.

Bibliografia

- AGARWAL, B., et al. 2013. Resveratrol for primary prevention of atherosclerosis: clinical trial evidence for improved gene expression in vascular endothelium. *Int J Cardiol*, 166, 246-248.
- AHMADI, Z. & ASHRAFIZADEH, M. 2020. Melatonin as a potential modulator of Nrf2. *Fundam Clin Pharmacol*, 34, 11-19.
- AHMED, S. M., et al. 2017. Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 1863, 585-597.
- ALDINI, G., et al. 2018. N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. *Free Radic Res*, 52, 751-762.
- ALEGRÍA-TORRES, J. A., et al. 2011. Epigenetics and lifestyle. *Epigenomics*, 3, 267-277.
- ALI, A., et al. 2021. Vitamin D exerts neuroprotection via SIRT1/nrf-2/NF-kB signaling pathways against D-galactose-induced memory impairment in adult mice. *Neurochem Int*, 142: 104893.
- ALI, S. S., et al. 2020. Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. *J Food Biochem*, 44, e13145.
- ALMATROODI, S. A. et al. 2020. Potential Therapeutic Targets of Epigallocatechin Gallate (EGCG), the Most Abundant Catechin in Green Tea, and Its Role in the Therapy of Various Types of Cancer. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25,14 3146.
- AMIR ASLANI, B. & GHOBADI, S. 2016. Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life Sci*, 146, 163-173.
- ANDREW, R. & IZZO, A. A. 2017. Principles of pharmacological research of nutraceuticals. *Br J Pharmacol*, 174, 1177-1194.
- ANNWEILER, C., et al. 2020. COVID-19 and high-dose VITamin D supplementation TRIAL in high-risk older patients (COVIT-TRIAL): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 21(1), 1-10.
- ARENTZ, S., et al. 2020. Zinc for the prevention and treatment of SARS-CoV-2 and other acute viral respiratory infections: a rapid review. *Adv Integr Med*, 7(4), 252.
- BALASUBRAMANYAM, M., et al. 2011. Impaired miR-146a expression links subclinical inflammation and insulin resistance in Type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem*, 351, 197-205.

- BASIT, S. 2013. Vitamin D in health and disease: a literature review. *Br J Biomed Sci*, 70, 161-72.
- BENSKIN, L. L. 2020. A basic review of the preliminary evidence that COVID-19 risk and severity is increased in vitamin D deficiency. *Front Public Health*, 8, 513.
- BENZIE, I. F. F. & STRAIN, J.J. 2009. Diet and Antioxidant Defense. In: Caballero, B. (Ed.). *Guide to Nutritional Supplements*, Cambridge, Massachusetts, USA, Academic Press.
- BERGER, S. L., et al. 2009. An operational definition of epigenetics. *Genes Dev*, 23, 781-783.
- BERGMAN, P. 2021. The link between vitamin D and COVID-19: distinguishing facts from fiction. *J Intern Med*, 289, 131-133.
- BHARDWAJ, R., et al. 2020. Probiotic mediated NF- κ B regulation for prospective management of type 2 diabetes. *Mol Biol Rep*, 47, 2301-2313.
- BHATTACHARJEE, S. & DASHWOOD, R. H. 2020. Epigenetic Regulation of NRF2/KEAP1 by Phytochemicals. *Antioxidants (Basel)*, 9(10), 1329.
- BLOMBERG, J., et al. 2018. Infection Elicited Autoimmunity and Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome: An Explanatory Model. *Front Immunol*, 9, 229.
- BOCCI, V., & VALACCHI, G. 2015. Nrf2 activation as target to implement therapeutic treatments. *Front Chem*, 3, 4.
- BONACCIO, M., et al. 2016. A score of low-grade inflammation and risk of mortality: prospective findings from the Moli-sani study. *Haematologica*, 101, 1434-1441.
- BOSMA-DEN BOER, M. M., et al. 2012. Chronic inflammatory diseases are stimulated by current lifestyle: how diet, stress levels and medication prevent our body from recovering. *Nutr Metab (Lond)*, 9, 32.
- BOUSQUET, J. et al. 2020. Nrf2-interacting nutrients and COVID-19: time for research to develop adaptation strategies. *Clin Transl Allergy*, 10(1), 58.
- BRAGAZZI, N. L. et al. 2017. Nutraceutical and functional food regulations in the European Union. In: Bagchi, D. e Nair, S. (Eds.). *Developing New Functional Food and Nutraceutical Products*. Cambridge, Massachusetts, USA, Academic Press, 309-322.
- BRENU, E.W., et al. 2011. Immunological abnormalities as potential biomarkers in Chronic Fatigue Syndrome/Myalgic Encephalomyelitis. *J Transl Med*, 9, 81.
- BUSSLER, S., et al. 2017. Novel Insights in the Metabolic Syndrome in Childhood and Adolescence. *Horm Res Paediatr*, 88, 181-193.
- CARDOZO, L. F., et al. 2013. Nutritional

strategies to modulate inflammation and oxidative stress pathways via activation of the master antioxidant switch Nrf2. *Biochimie*, 95, 1525-1533.

CAROCHO, M. & FERREIRA, I. C. 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol*, 51, 15-25.

CARRUTHERS, B. M., et al. 2011. Myalgic encephalomyelitis: International Consensus Criteria. *J Intern Med*, 270, 327-338.

CHANDA, S., et al. 2019. Nutraceuticals Inspiring the Current Therapy for Lifestyle Diseases. *Adv Pharmacol Sci*, 2019, 6908716.

CHARTOUMPEKIS, D. V. & KENSLER, T. W. 2013. New player on an old field; the Keap1/NRF2 pathway as a target for treatment of type 2 diabetes and metabolic syndrome. *Curr Diabetes Rev*, 9, 137-145.

CHAUDHURI, J., et al. 2018. The Role of Advanced Glycation End Products in Aging and Metabolic Diseases: Bridging Association and Causality. *Cell Metab*, 28, 337-352.

CHEN, W. W., et al. 2016. Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (Review). *Mol Med Rep*, 13, 3391-3396.

CHENG, D., et al. 2016. Regulation of Keap1-NRF2 signaling: The role of epigenetics. *Curr Opin Toxicol*, 1, 134-138.

CHILDS, C. E., et al. 2019. Diet and Immune Function. *Nutrients*, 11.

CHRIST, A., et al. 2018. Western Diet Triggers NLRP3-Dependent Innate Immune Reprogramming. *Cell*, 172, 162-175.e14.

CHRIST, A., et al. 2019. Western Diet and the Immune System: An Inflammatory Connection. *Immunity*, 51, 794-811.

CHRISTAKOS, S., et al. 2010. Vitamin D: metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 39, 243-253.

CORDERO, M. D., et al. 2012. Oxidative stress correlates with headache symptoms in fibromyalgia: coenzyme Q₁₀ effect on clinical improvement. *PLoS One*, 7, e35677.

COSKUN BENLIDAYI, I. 2019. Role of inflammation in the pathogenesis and treatment of fibromyalgia. *Rheumatol Int*, 39, 781-791.

CRESCENZO, R., et al. 2016. A possible link between hepatic mitochondrial dysfunction and diet-induced insulin resistance. *Eur J Nutr*, 55, 1-6.

CUADRADO, A., et al. 2018. Transcription Factor NRF2 as a Therapeutic Target for Chronic Diseases: A Systems Medicine Approach. *Pharmacol Rev*, 70, 348-383.

- CUADRADO, A., et al. 2019. Therapeutic targeting of the NRF2 and KEAP1 partnership in chronic diseases. *Nat Rev Drug Discov*, 18, 295-317.
- CUADRADO, A., et al. 2020. Can Activation of NRF2 Be a Strategy against COVID-19? *Trends Pharmacol Sci*, 41, 598-610.
- CUEVAS-SIERRA, A., et al. 2019. Diet, Gut Microbiota, and Obesity: Links with Host Genetics and Epigenetics and Potential Applications. *Adv Nutr*, 10, S17-s30.
- DALIU, P., et al. 2019. From pharmaceuticals to nutraceuticals: bridging disease prevention and management. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 12, 1-7.
- DE CARVALHO, J. F., et al. 2018. Vitamin D Supplementation Seems to Improve Fibromyalgia Symptoms: Preliminary Results. *Isr Med Assoc J*, 20, 379-381.
- DE PABLOS, R. M., et al. 2014. Chronic stress enhances microglia activation and exacerbates death of nigral dopaminergic neurons under conditions of inflammation. *J Neuroinflammation*, 11, 34.
- DE PUNDER, K. & PRUIMBOOM, L. 2015. Stress induces endotoxemia and low-grade inflammation by increasing barrier permeability. *Front Immunol*, 6, 223.
- DEMINE, S., et al. 2019. Mitochondrial Uncoupling: A Key Controller of Biological Processes in Physiology and Diseases. *Cells*, 8.
- DEREJE, S., et al. 2017. Cholecalciferol (D₃) Versus Ergocalciferol (D₂) in Older Adults. *Consult Pharm*, 32, 337-339.
- DGAV (2019). Perguntas Frequentes - FAQ Suplementos Alimentares. [Em linha]. Disponível em <http://srvbamid.dgv.min-agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look_parentBoui=36036635&att_display=n&att_download=y> [Consultado em 20/11/2020].
- DI MEO, F., et al. 2020. Bioactive Polyphenols and Neuromodulation: Molecular Mechanisms in Neurodegeneration. *Int J Mol Sci*, 21.
- DICIONÁRIO PRIBERAM DA LÍNGUA PORTUGUESA (2020). Significado De Suplemento. [Em linha]. Disponível em <<https://dicionario.priberam.org/suplemento>> [Consultado em 20/11/2020].
- DJORDJEVIC, J., et al. 2015. Alterations in the Nrf2-Keap1 signaling pathway and its downstream target genes in rat brain under stress. *Brain Res*, 1602, 20-31.
- DO, M. H., et al. 2018. High-Glucose or -Fructose Diet Cause Changes of the Gut Microbiota and Metabolic Disorders in Mice without Body Weight Change. *Nutrients*, 10.

- DODSON, M., et al. 2019. Modulating NRF2 in Disease: Timing Is Everything. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 59, 555-575.
- DRABORG, A., et al. 2016. How compelling are the data for Epstein-Barr virus being a trigger for systemic lupus and other autoimmune diseases? *Curr Opin Rheumatol*, 28, 398-404.
- EGGER, G. & DIXON, J. 2014. Beyond obesity and lifestyle: a review of 21st century chronic disease determinants. *Biomed Res Int*, 2014, 731685.
- ELBINI DHOUIB, I., et al. 2016. A minireview on N-acetylcysteine: An old drug with new approaches. *Life Sci*, 151, 359-363.
- ESPOSITO, K., et al. 2012. Metabolic syndrome and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care*, 35, 2402-2411.
- ETCHEGOYEN, M., et al. 2018. Metabolic Syndrome and Neuroprotection. *Front Neurosci*, 12, 196.
- EUROMONITOR INTERNATIONAL (2020). Dietary Supplements in Portugal. [Em linha]. Disponível em <<https://www.euromonitor.com/dietary-supplements-in-portugal/report>> [Consultado em 22/11/2020].
- EUROPEAN COMMISSION (2010). Functional Foods. [Em linha]. Disponível em <<https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/238407ee-0301-4309-9fac-e180e33a3f89>> [Consultado em 22/11/2020].
- EUROPEAN NUTRACEUTICAL ASSOCIATION HOME PAGE. [Em linha]. Disponível em <<https://www.enaonline.eu/>> [Consultado em 23/11/2020].
- FARKHONDEH, T., et al. 2020. The therapeutic effect of resveratrol: Focusing on the NRF2 signaling pathway. *Biomed Pharmacother*, 127, 110234.
- FAVERO, G., et al. 2019. Mitochondrial Dysfunction in Skeletal Muscle of a Fibromyalgia Model: The Potential Benefits of Melatonin. *Int J Mol Sci*, 20.
- FENG, T. & WANG, J. 2020. Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review. *Gut Microbes*, 12, 1801944.
- FERDER, L., et al. 2020. Vitamin D supplementation as a rational pharmacological approach in the Covid-19 pandemic. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 319(6), L941-L948.
- FERGUSON, L. R. 2010. Chronic inflammation and mutagenesis. *Mutat Res*, 690, 3-11.
- FERREIRA, I. C., et al. 2009. Antioxidants in wild mushrooms. *Curr Med Chem*, 16(12), 1543-1560.

- FETISOVA, E. K., et al. 2019. Therapeutic Effect of the Mitochondria-Targeted Antioxidant SkQ1 on the Culture Model of Multiple Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev*, 2082561.
- FINK, B. D., et al. 2012. Bioenergetic effects of mitochondrial-targeted coenzyme Q analogs in endothelial cells. *J Pharmacol Exp Ther*, 342, 709-719.
- FUKE, N., et al. 2019. Regulation of Gut Microbiota and Metabolic Endotoxemia with Dietary Factors. *Nutrients*, 11.
- FUNDAÇÃO PORTUGUESA DE CARDIOLOGIA (2016). Síndrome Metabólica [Em linha]. Disponível em <<http://www.fpcardiologia.pt/sindrome-metabolica/>> [Consultado em 27/11/2020].
- FURMAN, D., et al. 2019. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med*, 25, 1822-1832.
- GANESH YERRA, V., et al. 2013. Potential therapeutic effects of the simultaneous targeting of the Nrf2 and NF- κ B pathways in diabetic neuropathy. *Redox Biol*, 1, 394-397.
- GAO, Y., et al. 2017. Dietary sugars, not lipids, drive hypothalamic inflammation. *Mol Metab*, 6, 897-908.
- GARCÍA-GARCÍA, F. J., et al. 2020. Nutrition, Bioenergetics, and Metabolic Syndrome. *Nutrients*, 12(9), 2785.
- GAUTAM, P., et al. 2020. Altered redox regulation by Nrf2-Keap1 system in dendritic cells of systemic lupus erythematosus patients. *Lupus*, 29, 1544-1555.
- GENG, S., et al. 2016. The persistence of low-grade inflammatory monocytes contributes to aggravated atherosclerosis. *Nat Commun*, 7, 13436.
- GEORGESCU, S. R., et al. 2018. New Insights in the Pathogenesis of HPV Infection and the Associated Carcinogenic Processes: The Role of Chronic Inflammation and Oxidative Stress. *J Immunol Res*, 2018, 5315816.
- GHAEMI KERAHRODI, J. & MICHAL, M. 2020. The fear-defense system, emotions, and oxidative stress. *Redox Biol*, 37, 101588.
- GHANIM, H., et al. 2009. Increase in plasma endotoxin concentrations and the expression of Toll-like receptors and suppressor of cytokine signaling-3 in mononuclear cells after a high-fat, high-carbohydrate meal: implications for insulin resistance. *Diabetes Care*, 32, 2281-2287.

- GHANIM, H., et al. 2010. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and Toll-like receptor expression. *Am J Clin Nutr*, 91, 940-949.
- GIANAZZA, E., et al. 2021. Lipid Peroxidation in Atherosclerotic Cardiovascular Diseases. *Antioxid Redox Signal*, 34, 49-98.
- GIORDANO, A., & TOMMONARO, G. 2019. Curcumin and Cancer. *Nutrients*, 11(10), 2376.
- GLASSFORD, J. A. 2017. The Neuroinflammatory Etiopathology of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS). *Front Physiol*, 8, 88.
- GOLIA, E., et al. 2014. Inflammation and cardiovascular disease: from pathogenesis to therapeutic target. *Curr Atheroscler Rep*, 16, 435.
- GRANDL, G. & WOLFRUM, C. 2018. Hemostasis, endothelial stress, inflammation, and the metabolic syndrome. *Semin Immunopathol*, 40, 215-224.
- GRANT, W. B., et al. 2020. Evidence that Vitamin D Supplementation Could Reduce Risk of Influenza and COVID-19 Infections and Deaths. *Nutrients*, 12(4), 988.
- GRETEN, F. R. & GRIVENNIKOV, S. I. 2019. Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences. *Immunity*, 51, 27-41.
- GUILLAUMET-ADKINS, A., et al. 2017. Epigenetics and Oxidative Stress in Aging. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 9175806.
- GUO, Q., et al. 2020. Oxidative stress, nutritional antioxidants and beyond. *Sci China Life Sci*, 63, 866-874.
- GUTIERREZ-MARISCAL, F. M., et al. 2020. Coenzyme Q(10) Supplementation for the Reduction of Oxidative Stress: Clinical Implications in the Treatment of Chronic Diseases. *Int J Mol Sci*, 21(21), 7870.
- GUZMÁN-SILAHUA, S., et al. 2018. Fibromialgia. *El Residente*, 13(2), 62-67.
- HARIHARAN, A., et al. 2020. The Role and Therapeutic Potential of NF-kappa-B Pathway in Severe COVID-19 Patients. *Inflammopharmacology*, 1-10.
- HARLEY, J. B., et al. 2018. Transcription factors operate across disease loci, with EBNA2 implicated in autoimmunity. *Nat Genet*, 50, 699-707.
- HEISS, E. H., et al. 2013. Glucose availability is a decisive factor for Nrf2-mediated gene expression. *Redox Biol*, 1, 359-365.
- HEMATI, K., et al. 2020. Melatonin in the treatment of fibromyalgia symptoms: A systematic review. *Complement Ther Clin Pract*, 38, 101072.

- HERNÁNDEZ-CAMACHO, J. D., et al. 2018. Coenzyme Q(10) Supplementation in Aging and Disease. *Front Physiol*, 9, 44.
- HÖCK, A. D. 2014. Review: Vitamin D3 deficiency results in dysfunctions of immunity with severe fatigue and depression in a variety of diseases. *In Vivo*, 28, 133-145.
- HOECK, A. D. & PALL, M. L. 2011. Will vitamin D supplementation ameliorate diseases characterized by chronic inflammation and fatigue? *Med Hypotheses*, 76, 208-213.
- HOLICK, M. F. 2017. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord*, 18, 153-165.
- HOLMSTRÖM, K. M., et al. 2016. The multifaceted role of Nrf2 in mitochondrial function. *Curr Opin Toxicol*, 1, 80-91.
- HOSSEINIRAD, H., et al. 2021. Protective Effect of Vitamin D3 Against Pb-Induced Neurotoxicity by Regulating the Nrf2 and NF-κB Pathways. *Neurotox Res*, 1-10.
- IADSA (2018). The Evolution of the Health Supplements Sector - From the 1990s to the Current Day. [Em linha]. Disponível em <<https://www.iadsa.org/the-evolution-of-the-health-supplements-sector>> [Consultado em 22/11/2020].
- INFARMED (2016). *Produtos-fronteira* entre Suplementos Alimentares e Medicamentos. [Em linha]. Disponível em <<https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/PRODUTOS+FRONTEIRA+SULEMENTOS+MEDICAMENTOS.pdf/d0cd8e0f-fad8-474b-85b4-b32c01fac5e9>> [Consultado em 20/11/2020].
- INFARMED (2017). Boletim de Farmacovigilância, Portugal, 21, nº3, 2017. Suplementos alimentares: O que são e como notificar reações adversas. [Em linha]. Disponível em <<https://www.infarmed.pt/documents/15786/1983294/Boletim%2Bde%2BFarmacovigil%FF%FFncia%2C%2BVolume%2B21%2C%2Bn%FF%FF3%2C%2Bmar%FF%FFo%2Bde%2B2017/89d99edd-fb8c-4042-8a38-8d1bc5a555c7>> [Consultado em 20/11/2020].
- ITO, F., et al. 2019. Measurement and Clinical Significance of Lipid Peroxidation as a Biomarker of Oxidative Stress: Oxidative Stress in Diabetes, Atherosclerosis, and Chronic Inflammation. *Antioxidants (Basel)*, 8(3), 72.
- IVANOV, A. V., et al. 2017. Oxidative Stress in Infection and Consequent Disease. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 3496043.

- JAIS, A. & BRÜNING, J. C. 2017. Hypothalamic inflammation in obesity and metabolic disease. *J Clin Invest*, 127, 24-32.
- JHA, S. K., et al. 2017. Linking mitochondrial dysfunction, metabolic syndrome and stress signaling in Neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 1863, 1132-1146.
- JOACHIMIAK, M. P. 2021. Zinc against COVID-19? Symptom surveillance and deficiency risk groups. *PLoS Negl Trop Dis*, 15, e0008895.
- JOG, N. R., et al. 2019. Association of Epstein-Barr virus serological reactivation with transitioning to systemic lupus erythematosus in at-risk individuals. *Ann Rheum Dis*, 78, 1235-1241.
- JOHN, K., et al. 2016. The glucocorticoid receptor: cause of or cure for obesity? *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 310, E249-57.
- JOHNSON, D. A., et al. 2010. The absence of the pro-antioxidant transcription factor Nrf2 exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Toxicol Sci*, 114, 237-246.
- JOHNSON, D. A. & JOHNSON, J. A. 2015. Nrf2--a therapeutic target for the treatment of neurodegenerative diseases. *Free Radic Biol Med*, 88, 253-267.
- JOMOVA, K., et al. 2010. Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Mol Cell Biochem*, 345, 91-104.
- JORDAN, S. D., et al. 2011. Obesity-induced overexpression of miRNA-143 inhibits insulin-stimulated AKT activation and impairs glucose metabolism. *Nat Cell Biol*, 13, 434-46.
- JOTHIMANI, D., et al. 2020. COVID-19: Poor outcomes in patients with zinc deficiency. *Int J Infect Dis*, 100, 343-349.
- KERR, J. R. 2019. Epstein-Barr Virus Induced Gene-2 Upregulation Identifies a Particular Subtype of Chronic Fatigue Syndrome/Myalgic Encephalomyelitis. *Front Pediatr*, 7, 59.
- KIRICHENKO, T. V., et al. 2020. A Novel Insight at Atherogenesis: The Role of Microbiome. *Front Cell Dev Biol*, 8, 586189.
- KO, J-H. et al. 2017. The Role of Resveratrol in Cancer Therapy. *International journal of molecular sciences*, 18,12 2589.
- KOSTOGLU-ATHANASSIOU, I. 2013. Therapeutic applications of melatonin. *Ther Adv Endocrinol Metab*, 4, 13-24.

- KOZIEŁ, et al. 2013. Mitochondrial respiratory chain complex I is inactivated by NADPH oxidase Nox4. *Biochem J*, 452(2), 231–239.
- KUMAR, A., et al. 2020. Potential role of zinc supplementation in prophylaxis and treatment of COVID-19. *Med Hypotheses*, 144, 109848.
- LACOURT, T. E., et al. 2018. The High Costs of Low-Grade Inflammation: Persistent Fatigue as a Consequence of Reduced Cellular-Energy Availability and Non-adaptive Energy Expenditure. *Front Behav Neurosci*, 12, 78.
- LAROSA, V. & REMACLE, C. 2018. Insights into the respiratory chain and oxidative stress. *Biosci Rep*, 38(5).
- LASSELIN, J. & CAPURON, L. 2014. Chronic low-grade inflammation in metabolic disorders: relevance for behavioral symptoms. *Neuroimmunomodulation*, 21, 95-101.
- LAUGERETTE, F., et al. 2011. Complex links between dietary lipids, endogenous endotoxins and metabolic inflammation. *Biochimie*, 93, 39-45.
- LENTJES, M. A. H. 2019. The balance between food and dietary supplements in the general population. *Proc Nutr Soc*, 78, 97-109.
- LI, H., et al. 2013. Oxidative stress in vascular disease and its pharmacological prevention. *Trends Pharmacol Sci*, 34, 313-319.
- LIGUORI, I., et al. 2018. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*, 13, 757-772.
- LIN, G. J., et al. 2013. Modulation by melatonin of the pathogenesis of inflammatory autoimmune diseases. *Int J Mol Sci*, 14, 11742-11766.
- LINGAPPAN, K. 2018. NF- κ B in Oxidative Stress. *Curr Opin Toxicol*, 7, 81-86.
- LIU, H. 2017. *Behavioral, Cognitive, and Biochemical consequences of early life stress in later life: insights from an animal model*. PhD thesis, University of Houston, Texas, USA.
- LIU, N., et al. 2021. Low vitamin D status is associated with coronavirus disease 2019 outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis*, 104, 58-64.
- LIU, T., et al. 2017. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther*, 2(1), 1-9.
- LUCASSEN, E. A. & CIZZA, G. 2012. The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis, Obesity, and Chronic Stress Exposure: Sleep and the HPA Axis in Obesity. *Curr Obes Rep*, 1, 208-215.
- MA, Q. 2013. Role of NRF2 in oxidative stress and toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 53, 401-426.

- MAES, M. & TWISK, F. N. 2009. Why myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome (ME/CFS) may kill you: disorders in the inflammatory and oxidative and nitrosative stress (IO&NS) pathways may explain cardiovascular disorders in ME/CFS. *Neuro Endocrinol Lett*, 30, 677-693.
- MARQUES-ROCHA, J. L., et al. 2016. Expression of inflammation-related miRNAs in white blood cells from subjects with metabolic syndrome after 8 wk of following a Mediterranean diet-based weight loss program. *Nutrition*, 32, 48-55.
- MARTOCCHIA, A., et al. 2016. Recent advances in the role of cortisol and metabolic syndrome in age-related degenerative diseases. *Aging Clin Exp Res*, 28, 17-23.
- MATSCHKE, V., et al. 2019. Oxidative stress: the lowest common denominator of multiple diseases. *Neural Regen Res*, 14, 238-241.
- MATZINGER, M., et al. 2018. Activation of Nrf2 signaling by natural products-can it alleviate diabetes? *Biotechnol Adv*, 36, 1738-1767.
- MAULUCCI, G., et al. 2016. Hormetic and regulatory effects of lipid peroxidation mediators in pancreatic beta cells. *Mol Aspects Med*, 49, 49-77.
- MAYDYCH, V. 2019. The Interplay Between Stress, Inflammation, and Emotional Attention: Relevance for Depression. *Front Neurosci*, 13, 384.
- MEDINA, G., et al. 2018. Metabolic syndrome, autoimmunity and rheumatic diseases. *Pharmacol Res*, 133, 277-288.
- MENDES, N. F., et al. 2018. Hypothalamic Microglial Activation in Obesity: A Mini-Review. *Front Neurosci*, 12, 846.
- MERCOLA, J., et al. 2020. Evidence Regarding Vitamin D and Risk of COVID-19 and Its Severity. *Nutrients*, 12(11), 3361.
- MILLER, E., et al. 2017. Potential of redox therapies in neurodegenerative disorders. *Front Biosci (Elite Ed)*, 9, 214-234.
- MINIHANE, A. M., et al. 2015. Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. *Br J Nutr*, 114, 999-1012.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO MAR. Decreto-Lei nº118/2015, de 23 de junho. *Diário da República n.º 120/2015, Série I*.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto. *Diário da República n.º 167/2006, Série I*.
- MORGAN, M. J. & LIU, Z. G. 2011. Crosstalk of reactive oxygen species and NF-κB signaling. *Cell Res*, 21, 103-115.

- MORRIS, G., et al. 2013. Coenzyme Q10 depletion in medical and neuropsychiatric disorders: potential repercussions and therapeutic implications. *Mol Neurobiol*, 48, 883-903.
- MORRIS, G. & MAES, M. 2013. A neuro-immune model of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic fatigue syndrome. *Metab Brain Dis*, 28, 523-540.
- MORRIS, G., et al. 2014. The glutathione system: a new drug target in neuroimmune disorders. *Mol Neurobiol*, 50, 1059-1084.
- MORRIS, G., et al. 2019. Myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: From pathophysiological insights to novel therapeutic opportunities. *Pharmacol Res*, 148, 104450.
- MURDACA, G., et al. 2019. Emerging role of vitamin D in autoimmune diseases: An update on evidence and therapeutic implications. *Autoimmun Rev*, 18, 102350.
- MYLES, I. A. 2014. Fast food fever: reviewing the impacts of the Western diet on immunity. *Nutr J*, 13, 61.
- NAKAI, K., et al. 2014. Vitamin D activates the Nrf2-Keap1 antioxidant pathway and ameliorates nephropathy in diabetic rats. *Am J Hypertens*, 27, 586-595.
- NATARAJ, B. H., et al. 2020. Postbiotics-parabiotics: the new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microb Cell Fact*, 19, 168.
- NEGI, G., et al. 2011. Melatonin modulates neuroinflammation and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy: effects on NF- κ B and Nrf2 cascades. *J Pineal Res*, 50, 124-131.
- NETTO CANDIDO, T. L., et al. 2018. Dysbiosis and metabolic endotoxemia induced by high-fat diet. *Nutr Hosp*, 35, 1432-1440.
- OHL, K., et al. 2016. Oxidative stress in multiple sclerosis: Central and peripheral mode of action. *Exp Neurol*, 277, 58-67.
- OLECHNOWICZ, J., et al. 2018. Zinc status is associated with inflammation, oxidative stress, lipid, and glucose metabolism. *J Physiol Sci*, 68, 19-31.
- OMRAN, A., et al. 2013. MicroRNAs: new insights into chronic childhood diseases. *Biomed Res Int*, 2013, 291826.
- OMS (2006). Basic Documents. 45th ed. [Em linha]. Disponível em <https://www.who.int/governance/eb/who_constitution_en.pdf> [Consultado em 20/11/2020].
- PAHWA, R., et al. 2020. Chronic Inflammation. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.

- PAL, A., et al. 2020. Zinc and COVID-19: Basis of Current Clinical Trials. *Biol Trace Elem Res*, 1-11.
- PALA, R., et al. 2016. Coenzyme Q10 Supplementation Modulates NFκB and Nrf2 Pathways in Exercise Training. *J Sports Sci Med*, 15, 196-203.
- PALTHUR, M. P., et al. 2010. Nutraceuticals: a conceptual definition. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2(3), 19-27.
- PAN, X., et al. 2018. Acrylamide-induced oxidative stress and inflammatory response are alleviated by N-acetylcysteine in PC12 cells: Involvement of the crosstalk between Nrf2 and NF-κB pathways regulated by MAPKs. *Toxicol Lett*, 288, 55-64.
- PARLAMENTO EUROPEU E CONSELHO. Diretiva 2002/46/CE, de 10 de Junho. Jornal Oficial das Comunidades Europeias nº L 183. Disponível em <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32002L0046&from=DA>> [Consultado em 20/11/2020].
- PASQUALI, R. 2018. Metabolic Syndrome in Polycystic Ovary Syndrome. *Front Horm Res*, 49, 114-130.
- PÉREZ, R.F. et al. 2019. Epigenetics and Lifestyle: The Impact of Stress, Diet, and Social Habits on Tissue Homeostasis. In: Palacios, D. (Ed.). *Epigenetics and Regeneration*. Rome, Italy, Academic Press, 461-489.
- PHANIENDRA, A., et al. 2015. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem*, 30, 11-26.
- PIZZINO, G., et al. 2017. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 8416763.
- POLJSK, B., et al. 2013. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, 956792.
- POURHANIFEH, M. H., et al. 2020. Melatonin: new insights on its therapeutic properties in diabetic complications. *Diabetol Metab Syndr*, 12, 1-20.
- PROAL, A. & MARSHALL, T. 2018. Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome in the Era of the Human Microbiome: Persistent Pathogens Drive Chronic Symptoms by Interfering With Host Metabolism, Gene Expression, and Immunity. *Front Pediatr*, 6, 373.
- RAINS, J. L. & JAIN, S. K. 2011. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radic Biol Med*, 50, 567-575.
- RAJENDRAN, P., et al. 2014. Antioxidants and human diseases. *Clin Chim Acta*, 436, 332-47.

- RASK-MADSEN, C. & KAHN, C. R. 2012. Tissue-specific insulin signaling, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 32, 2052-2059.
- REMELY, M., et al. 2015. Therapeutic perspectives of epigenetically active nutrients. *Br J Pharmacol*, 172, 2756-2768.
- REN, Z., et al. 2013. Resveratrol inhibits NF- κ B signaling through suppression of p65 and I κ B kinase activities. *Pharmazie*, 68, 689-694.
- RESHKOVA, V., et al. 2016. Evaluation of Antiviral Antibodies against Epstein-Barr Virus and Neurotransmitters in Patients with Fibromyalgia. *J Neurol Neurosci*, 6.
- RIVAS, J. L., et al. 2018. Association of T and NK Cell Phenotype With the Diagnosis of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS). *Front Immunol*, 9, 1028.
- ROLLES, B., et al. 2018. Influence of zinc deficiency and supplementation on NK cell cytotoxicity. *J Funct Foods*, 48, 322-328.
- ROMANO, G. F., et al. 2015. Fibromyalgia and chronic fatigue: the underlying biology and related theoretical issues. *Adv Psychosom Med*, 34, 61-77.
- RONIS, M. J. J., et al. 2018. Adverse Effects of Nutraceuticals and Dietary Supplements. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 58, 583-601.
- RUHEE, R. T. & SUZUKI, K. 2020. The Integrative Role of Sulforaphane in Preventing Inflammation, Oxidative Stress and Fatigue: A Review of a Potential Protective Phytochemical. *Antioxidants (Basel)*, 9(6), 521.
- RUIZ-NÚÑEZ, B., et al. 2013. Lifestyle and nutritional imbalances associated with Western diseases: causes and consequences of chronic systemic low-grade inflammation in an evolutionary context. *J Nutr Biochem*, 24, 1183-1201.
- SAHIN, K., et al. 2017. β -Cryptoxanthin ameliorates metabolic risk factors by regulating NF- κ B and Nrf2 pathways in insulin resistance induced by high-fat diet in rodents. *Food Chem Toxicol*, 107, 270-279.
- SAINI, R. 2011. Coenzyme Q10: The essential nutrient. *J Pharm Bioallied Sci*, 3, 466-467.
- ŠALAMON, Š., et al. 2019. Medical and Dietary Uses of N-Acetylcysteine. *Antioxidants (Basel)*, 8(5), 111.
- SAMODIEN, E., et al. 2019. Diet-induced hypothalamic dysfunction and metabolic disease, and the therapeutic potential of polyphenols. *Mol Metab*, 27, 1-10.
- SANTINI, A., et al. 2017. Nutraceuticals: A paradigm of proactive medicine. *Eur J Pharm Sci*, 96, 53-61.

- SANTINI, A. & NOVELLINO, E. 2017. To Nutraceuticals and Back: Rethinking a Concept. *Foods*, 6.
- SANTINI, A., et al. 2018. Nutraceuticals: opening the debate for a regulatory framework. *Br J Clin Pharmacol*, 84, 659-672.
- SATOKARI, R. 2020. High Intake of Sugar and the Balance between Pro- and Anti-Inflammatory Gut Bacteria. *Nutrients*, 12(5).
- SCHMIDLIN, C. J., et al. 2019. Redox regulation by NRF2 in aging and disease. *Free Radic Biol Med*, 134, 702-707.
- SCHMIDT, H. 2016. Chronic Disease Prevention and Health Promotion. In: D, H. B., L, W. O., DAWSON, A., SAENZ, C., REIS, A. & BOLAN, G. (eds.) *Public Health Ethics: Cases Spanning the Globe*. Cham (CH): Springer Copyright, The Author(s).
- SCHMITZ, S. M., et al. 2020. Serious Adverse Events Reported with Dietary Supplement Use in the United States: A 2.5 Year Experience. *J Diet Suppl*, 17, 227-248.
- SENA, C. M., et al. 2018. Vascular Oxidative Stress: Impact and Therapeutic Approaches. *Front Physiol*, 9, 1668.
- SEONG, J., et al. 2019. Hypothalamic inflammation and obesity: a mechanistic review. *Arch Pharm Res*, 42, 383-392.
- SHARIFI-RAD, M., et al. 2020. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Front Physiol*, 11, 694.
- SIES, H. & JONES, D. P. 2020. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 21, 363-383.
- SINGH, C. K., et al. 2018. The Role of Sirtuins in Antioxidant and Redox Signaling. *Antioxid Redox Signal*, 28, 643-661.
- SIRICO, F., et al. 2018. Habits and beliefs related to food supplements: Results of a survey among Italian students of different education fields and levels. *PLoS One*, 13, e0191424.
- SIVANDZADE, F., et al. 2019. NRF2 and NF- κ B interplay in cerebrovascular and neurodegenerative disorders: Molecular mechanisms and possible therapeutic approaches. *Redox Biol*, 21, 101059.
- SLYEPCHENKO, A., et al. 2017. Gut Microbiota, Bacterial Translocation, and Interactions with Diet: Pathophysiological Links between Major Depressive Disorder and Non-Communicable Medical Comorbidities. *Psychother Psychosom*, 86, 31-46.

- SOARES, F. L., et al. 2013. Gluten-free diet reduces adiposity, inflammation and insulin resistance associated with the induction of PPAR-alpha and PPAR-gamma expression. *J Nutr Biochem*, 24, 1105-1111.
- SOTZNY, F., et al. 2018. Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome - Evidence for an autoimmune disease. *Autoimmun Rev*, 17, 601-609.
- STEFANAKI, C., et al. 2018. Chronic stress and body composition disorders: implications for health and disease. *Hormones (Athens)*, 17, 33-43.
- SU, L. J., et al. 2019. Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 5080843.
- SWAMI, S., et al. 2012. Dietary vitamin D₃ and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (calcitriol) exhibit equivalent anticancer activity in mouse xenograft models of breast and prostate cancer. *Endocrinology*, 153, 2576-2587.
- TAHA, R. & Blaise, G. 2014. Nrf2 activation as a future target of therapy for chronic diseases. *Functional Foods in Health and Disease*, 4(12), 510-523.
- TIFFON, C. 2018. The Impact of Nutrition and Environmental Epigenetics on Human Health and Disease. *Int J Mol Sci*, 19(11), 3425.
- TOMAS, C. & NEWTON, J. 2018. Metabolic abnormalities in chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis: a mini-review. *Biochem Soc Trans*, 46, 547-553.
- VILLENEUVE, N. F., et al. 2010. Regulation of the Nrf2-Keap1 antioxidant response by the ubiquitin proteasome system: an insight into cullin-ring ubiquitin ligases. *Antioxid Redox Signal*, 13, 1699-1712.
- VONA, R., et al. 2019. Biomarkers of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome and Associated Diseases. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 8267234.
- VRIJHEID, M. 2014. The exposome: a new paradigm to study the impact of environment on health. *Thorax*, 69, 876-878.
- WANG, Y., et al. 2015. Hypochlorous acid generated by neutrophils inactivates ADAMTS13: an oxidative mechanism for regulating ADAMTS13 proteolytic activity during inflammation. *J Biol Chem*, 290, 1422-1431.
- WANG, Y., et al. 2018. Curcumin as a therapeutic agent for blocking NF-κB activation in ulcerative colitis. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 40, 476-482.
- WARDYN, J. D., et al. 2015. Dissecting molecular cross-talk between Nrf2 and NF-κB response pathways. *Biochem Soc Trans*, 43, 621-626.
- WESSELS, I., et al. 2017. Zinc as a Gatekeeper of Immune Function. *Nutrients*, 9.

- WESSELS, I., et al. 2020. The Potential Impact of Zinc Supplementation on COVID-19 Pathogenesis. *Front Immunol*, 11, 1712.
- WILLIAMSON, T. P., et al. 2012. Activation of the Nrf2-ARE pathway by siRNA knockdown of Keap1 reduces oxidative stress and provides partial protection from MPTP-mediated neurotoxicity. *Neurotoxicology*, 33, 272-279.
- WŁODARSKI, A., et al. 2020. The Role of microRNAs in Metabolic Syndrome-Related Oxidative Stress. *Int J Mol Sci*, 21(18), 6902.
- WOOD, E., et al. 2020. Role of mitochondria, oxidative stress and the response to antioxidants in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: a possible approach to SARS-CoV-2 'long-haulers'? *Chronic Dis Transl Med*.
- WU, S., et al. 2019. Nrf2 in cancers: A double-edged sword. *Cancer Med*, 8, 2252-2267.
- WU, X. Y., et al. 2014. N-acetylcysteine reduces oxidative stress, nuclear factor- κ B activity and cardiomyocyte apoptosis in heart failure. *Mol Med Rep*, 10, 615-624.
- XU, Y., et al. 2020. The importance of vitamin d metabolism as a potential prophylactic, immunoregulatory and neuroprotective treatment for COVID-19. *J Transl Med*, 18(1), 1-12.
- YADAV, A., et al. 2018. Resveratrol loaded solid lipid nanoparticles attenuate mitochondrial oxidative stress in vascular dementia by activating Nrf2/HO-1 pathway. *Neurochem Int*, 112, 239-254.
- YANG, J., et al. 2020. Protective role of mitoquinone against impaired mitochondrial homeostasis in metabolic syndrome. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1-19.
- YARIBEYGI, H., et al. 2020. Molecular Mechanisms Linking Oxidative Stress and Diabetes Mellitus. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 8609213.
- YU, H., et al. 2020. Targeting NF- κ B pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study. *Signal Transduct Target Ther*, 5, 209.
- ZAMPETAKI, A., et al. 2010. Plasma microRNA profiling reveals loss of endothelial miR-126 and other microRNAs in type 2 diabetes. *Circ Res*, 107, 810-817.
- ZANNAS, A. S., et al. 2019. Epigenetic upregulation of FKBP5 by aging and stress contributes to NF- κ B-driven inflammation and cardiovascular risk. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 116, 11370-11379.
- ZHANG, L., et al. 2019. Biochemical basis and metabolic interplay of redox regulation. *Redox Biol*, 26, 101284.

ZHOU, Y., et al. 2018. N-acetylcysteine amide provides neuroprotection via Nrf2-ARE pathway in a mouse model of traumatic brain injury. *Drug Des Devel Ther*, 12, 4117-4127.

ZIMTA, A. A., et al. 2019. The Role of Nrf2 Activity in Cancer Development and Progression. *Cancers (Basel)*, 11(11), 1755.

ŻÓŁKIEWICZ, J., et al. 2020. Postbiotics-A Step Beyond Pre- and Probiotics. *Nutrients*, 12(8), 2189.