

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



POLIFENÓIS E COVID-19

Mafalda Maria Teixeira Pereira

Monografia orientada pela Professora Doutora Maria Henriques Lourenço
Ribeiro_Professora Associada

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2021

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



POLIFENÓIS E COVID-19

Mafalda Maria Teixeira Pereira

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas apresentado à
Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Maria Henriques Lourenço
Ribeiro_Professora Associada

2021

Resumo

Os polifenóis encontram-se presentes na nossa dieta, nomeadamente em vegetais, fruta, café, chá e vinho. Estes compostos têm inúmeros efeitos benéficos no organismo humano, após sofrerem metabolização, convertendo-se, por sua vez, em compostos bioativos, a nível intestinal (1).

A COVID-19 é uma patologia que engloba manifestações do foro pulmonar, renal, cardíaco e hepático. A sigla COVID-19 representa Corona (CO), Virus (VI), Disease (D), 2019 (19). Sabe-se que a pandemia COVID-19, induzida pela Síndrome Respiratória Aguda Grave do Coronavírus 2 (SARS-CoV-2), tem provocado danos irreparáveis a nível global, social e económico, com um elevado índice de mortalidade (2).

Alguns fatores preponderantes para a evolução da doença incluem idade avançada, género masculino e comorbilidades, como hipertensão, diabetes mellitus (DM), obesidade, doenças pulmonares crónicas, cardíacas, hepáticas e renais, tumores, imunodeficiência e gravidez. Possíveis complicações poderão advir como lesão renal aguda (AKI), coagulopatias e tromboembolismo (TE). O desenvolvimento de linfopenia e eosinopenia são indicadores laboratoriais da COVID-19 (2) (3).

A SARS-CoV-2 possui uma componente inflamatória muito extensa e variável. Sabe-se que a inflamação é um mecanismo natural de defesa contra agentes patogénicos, a qual se encontra relacionada com variadíssimas patologias, nomeadamente infeções virais. Assim, o stress oxidativo ativar os genes responsáveis pela inflamação, aumentando os fatores de transcrição. A inflamação é, assim, a causa primária para a severidade de uma patologia, sendo deveras importante reduzi-la (4).

Curiosamente, existe uma forte e estreita relação entre os polifenóis e inúmeras patologias, inclusive a COVID-19. Os polifenóis regulam a imunidade celular, interferindo na síntese de citocinas pró-inflamatórias e na expressão dos seus genes. Além disso, os polifenóis inibem as enzimas específicas necessárias para a síntese de espécies reativas de oxigénio (ROS) pela xantina oxidase e NADPH oxidase. Estes têm também como função regular positivamente as enzimas antioxidantes endógenas, tais como superóxido dismutase (SOD), catalase e glutathione peroxidase (GPx) (4).

Palavras-chave: COVID-19, comorbilidades, SARS-CoV-2, polifenóis, inflamação

Abstract

Polyphenols are present in our diet, namely in vegetables, fruit, coffee, tea and wine. These compounds have numerous beneficial effects on the human body, after undergoing metabolism, becoming, in turn, bioactive compounds, at the intestinal level (1).

COVID-19 is a pathology that encompasses pulmonary, renal, cardiac and hepatic manifestations. The acronym COVID-19 stands for Corona (CO), Virus (VI), Disease (D), 2019 (19). It is known that COVID-19 pandemic induced by the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has caused irreparable damage globally, socially and economically, with a high mortality rate (2).

Some preponderant factors for the evolution of the disease include advanced age, male gender and comorbidities, such as hypertension, diabetes mellitus (DM), obesity, chronic lung, cardiac, liver and kidney diseases, tumors, immunodeficiency and pregnancy. Possible complications can arise such as acute kidney injury (AKI), coagulopathies and thromboembolism (ET). The development of lymphopenia and eosinopenia are laboratory indicators of COVID-19 (2) (3).

SARS-CoV-2 has a very extensive and variable inflammatory component. It is known that inflammation is a natural defense mechanism against pathogens, which is related to many different pathologies, including viral infections. Thus, oxidative stress will activate the genes responsible for inflammation, the transcription factor factor. Inflammation is, therefore, a primary cause for the severity of a pathology, and it is very important to reduce it (4).

Interestingly, there is a strong and close relationship between polyphenols and pathological references, including COVID-19. Polyphenols regulate cellular immunity, interfering with the synthesis of pro-inflammatory cytokines and the expression of their genes. In addition, polyphenols inhibit specific enzymes required for the expression of reactive oxygen species (ROS) by xanthine oxidase and NADPH oxidase. These also function up-regulate as endogenous antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase and glutathione peroxidase (GPx) (4).

Keywords: COVID-19, comorbidities, SARS-CoV-2, polyphenols, inflammation

Abreviaturas

3CLpro- *3-Chymotrypsin-Like Protease*- Protease do Tipo 3-Quimiotripsina

4CL- *4-Coumarate-CoA ligase*- 4-cumarato-CoA ligase

5 ' AMP- *5'Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase*- 5 ' Adenosina Monofosfato

ADE- *Antibody-Dependent Enhancement*- Aprimoramento Dependente de Anticorpos

ALI- *Acute Lung Injury*- Lesão Agudo de Pulmão

AMPC- *Cyclic Adenosine Monophosphate*- Monofosfato de Adenosina Cíclico

AMPK- *5'Adenosine Monophosphate- Activated Protein Kinase*- Proteína Quinase Ativada pela via 5 ' Adenosina Monofosfato

ANR- Antocianinas Redutases

ANS- Antocianinas Sintases

Anti-S-IgG- *Anti-S Protein-Neutralizing*- Anticorpos de Proteína S Neutralizantes

APTT- *Activated Partial-Thromboplastin Time*- Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado

ARDS- *Acute Respiratory Distress Syndrome* - Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo

ARDS- *Acute Respiratory Distress Syndrome*- Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo

AUC- *Area Under the ROC Curve* - Área sob a Curva

Auto-Abs- *Auto-antibodies*- Auto-anticorpos

B0AT1- *Sodium-Dependent Neutral Amino Acid Transporter* - Transportador de aminoácido neutro dependente de sódio

BALF- *Bronchoalveolar Lavage Fluid*- Fluido de Lavagem Broncoalveolar

BDNF- *Brain-Derived Neurotrophic Factor*- Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro

BSG- *Basigin*- Basigina

BUN- *Blood Urea Nitrogen*- Nitrogénio Ureico no Sangue

CBG- Glucosidase

CHS- *Chalcone synthase*- Chalcona Sintase

CKD- *Chronic kidney disease*- Doença Renal Crónica

CLD- *C Terminal Collectrin-Like Domain* - Domínio Colectrina Like

CLD- *Chronic Liver Disease*- Doença Hepática Crónica

COMT- *Catechol-O-Methyltransferase*- Catecol-O-Metiltransferase

CoV- Coronavírus

CRTH2- *Chemoattractant Receptor-Homologous Molecule Expressed on TH2 Cells*- Receptor Químioatraente - Molécula Homóloga Expressa em Células TH2

Ct- *Cycle Threshold*- Ciclo de Margem
cTnI- *Cardiac Troponin I*- Troponina I cardíaca
DM- Diabetes Mellitus
DRF- Dihidroflavonois Redutases
E- *Envelope Protein*- Proteína do Envelope
EBV6- *Epstein-Barr Virus*- Vírus Epstein-Barr
ECGC- *Epigallocatechin Gallate*- 3 Galato de Epigallocatequina
ENT- *Ear Nose Throat*- Ouvido, Nariz e Garganta
EP- Embolia Pulmonar
ERK-1 e 2- *Extracellular Signal-Regulated Kinase 1 and 2*- Quinase Extracelular Regulada por Sinal
F3H- *Flavanones 3 Hydroxylases*- Flavanonas 3 Hidroxilases
FcR- *Fc Receptors*- Recetores Fc
FEV-1- *Forced Expiratory Volume in the First Second*- Volume Expiratório Forçado em 1 Segundo
FMD- *Flow mediated dilation* - Dilatação mediada por fluxo
GALS3- *Galectin-3*- Galectina-3
GLUT- *Glucose Transporter 1*- Transportador de Glicose 1
GMPc- *Cyclic guanosine monophosphate* - Monofosfato de Guanosina Cíclico
GPx1- *Glutathione peroxidase 1*- Glutationa Peroxidase-1
H1N1- *Influenza A Virus*- Vírus Influenza A
HBV- *Hepatitis B Virus*- Vírus Hepatite B
HCV- *Hepatitis C Virus*- Vírus Hepatite C
HE- *Hemagglutinin-Esterase*- Hemaglutinina Esterase
HIV- *Human Immunodeficiency Virus*- Vírus da Imunodeficiência Humana
HO-1- *Heme oxygenase 1*- Heme Oxigenase-1
HOMA-IR- *Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance* - Avaliação do Modelo Homeostático da Resistência à Insulina
HSV-1- *Herpes Simplex Virus 1*- Vírus Herpes Simplex 1
HZ- *Hazard Ratio*- Razão de Risco
ICAM-1- *Intercellular adhesion molecule-1*- Molécula de Adesão Intercelular 1
ICIs- *Immune Checkpoint Inhibitors*- Inibidores de Checkpoint Imunológico
IEI- *Inborn Errors of Immunity*- Erros Inatos de Imunidade

IFNs tipo I- *Type I Interferons*- Interferão tipo I

IFS- *Isoflavone Synthases*- Isoflavonas Sintases

iNOS- *Nitric Oxide Synthase*- Óxido Nítrico Sintase

IPF- *Idiopathic Pulmonary Fibrosis*- Fibrose Pulmonar Idiopática

ITGA3- *Integrin Subunit Alpha 3* - Integrina Alfa-3

ITGA6- *Integrin Subunit Alpha 6* - Integrina Alfa-6

KL – 6- Krebs von den Lungen 6

LPH- *Lactase Florizine Hydrolase*- Lactase Florizina Hidrolase

M-*Membrane Protein*- Proteína da Membrana

MAPK- *Mitogen-Activated Protein Kinases*- Proteínas Quinases Ativadas por Mitogénio

MCP-1- *Monocyte Chemoattractant Protein-1*- Proteína-Quimioatraente de Monócitos 1

MCT4- *Monocarboxylate Carrier 4*- Transportador de Monocarboxilato 4

MCV- *Mean Corpuscular Volume*- Volume Celular Médio

MERS-CoV-2- *Middle East Respiratory Syndrome*- Síndrome Respiratória do Oriente Médio

NADPH- *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase* -Fosfato de Dinucleotídeo de Nicotinamida Adenina

NF-E2- *Transcription Factor Nuclear Factor-Erythroid 2*- Fator Nuclear Eritróide 2

NF-kB- *Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells*- Fator Nuclear kB

NFATC1- *Nuclear Factor of Activated T Cells 1* - Fator Nuclear das Células T Ativadas 1

NO- *Nitric Oxide*- Óxido Nítrico

NOD- *Nucleotide-Binding Oligomerization Domain*- Nucleótido - Domínio de Ligação Oligomerização

NOX- *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase* - Fosfato de Dinucleotídeo de Nicotinamida Adenina Oxidase

Nrf2- *Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2*- Fator Nuclear Eritróide 2- Fator Relacionado 2

OD- *Odd Ratio*- Razão de Probabilidades

OMS- Organização Mundial de Saúde

PAD- Pressão Arterial Diastólica

PAL- *Phenylalanine Ammonia-Lyase*- Fenilalanina Amonioliase

PAS- Pressão Arterial Sistólica

PCA- *Protocatechuic Acid*- Ácido Protocatecuico

PCR- Proteína C-Reativa

PCT- *Procalcitonin*- Procalcitonina

PD- *N-Terminal Peptidase Domain*- Domínio N-terminal
PDL1- *Checkpoint Inhibitor Death Ligand-1*- Morte Celular Programada-1

PKC- *Protein kinase C*- Proteína Quinase C

PLpro- *Papain-Like Protease*- Protease Semelhante à Papaína

PPIA – *Peptidylpeptidyl-Prolyl Cis/Trans Isomerase A*- Peptidil-Peptidil-Prolil Cis / Trans Isomerase A"

pRb- *Retinoblastoma Protein*- Proteína do Retinoblastoma

RAS- *Renin-Angiotensin System*- Sistema Renina-Angiotensina

RBD- *Receptor-Binding Domain*- Domínio de Ligação do Recetor

RdRp- *RNA-dependent RNA polymerase* - RNA polimerase dependente de RNA

RES- Resveratrol

ROS-*Reactive Oxygen Species*- Espécies Reativas de Oxigênio

RRT- *Renal Replacement Therapy*- Terapêutica Renal de Substituição

S- *Spike Glycoprotein Trimer*

SARS-CoV-2- *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*- Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2

Scr- *Serum Creatinine* – Creatinina Sérica

SIRT1- *Sirtuin 1*

SLC7A5- *Solute Carrier Family 7 Member 5*- Família de Portadores de Solutos 7 Membro 5

SOD- *Superoxide Dismutase*- Superóxido Dismutase

SOFA- *Sepsis-Related Organ Failure Assessment* - Pontuação de Avaliação de Falência de Órgão Sequencial

STAT - *Signal Transducer and Activator of Transcription*- Proteínas do Transdutor de Sinal e Ativador da Transcrição

SuPAR- *Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor*- Receptor Solúvel do Ativador do Plasminogénio da Uroquinase

TC- Tomografia Computarizada

TEV- Tromboembolismo Venoso

TLR-3- *Receptores Toll-Like*- Recetores do Tipo Toll 3

TMPRSS2- *Transmembrane Serine Protease 2*- Serina Protease Transmembrana 2

TNF- α - *Tumor Necrosis Factor*- Fator de Necrose Tumoral

TP- Tempo de Protrombina

VCAM-1- *Vascular cell adhesion protein 1*- Molécula de Adesão de Células Vasculares 1

Agradecimentos

À minha família, a quem estou eternamente grata. São o bem mais precioso. Aos meus pais por sempre terem acreditado em mim. À minha mãe, por ser o meu ídolo, por todos os sacrifícios que fez e faz, por todos os conselhos, por todo o amor, afeto e comidinha deliciosa. Por estar sempre cá para mim. Ao meu pai, por todo o amor e carinho, por me ensinar a ser forte e a ser feliz. Por ser a força da natureza, a minha inspiração, o sol da minha vida e o meu anjo da guarda. Ao meu irmão, por toda as risadas, por toda a paciência, amor e apoio. Pelos nossos momentos. Ao meu namorado, por cuidar de mim como uma princesa. Por todo o amor, carinho, atenção, paciência e cozinhados maravilhosos. Amo-vos mais que tudo na vida.

À minha titia Sandra por todo o amor, alegria, cozinhados saborosos e carinho. Aos meus tios, avó e primos do meu coração.

Aos meus cunhadinhos e à minha sogra por toda a alegria, amor e apoio. Adoro-vos muito.

Aos melhores amigos que a faculdade me deu por todos os momentos inesquecíveis que passámos juntos, por todas as farmos, por todas as histórias que criámos e que continuaremos a criar, por todas as nossas festas na Ameixoeira Hills e na faculdade. Vocês são o melhor que a FFUL me podia alguma vez ter dado. E aos meus restantes amigos, obrigada por tudo. Estão para sempre no meu coração.

À minha orientadora, Professora Doutora Maria Henriques, por toda a orientação e tranquilidade transmitida.

À minha farmácia, por todo o apoio, ensinamentos e carinho.

Índice

Resumo.....	v
Abstract	vi
Abreviaturas	vii
Agradecimentos.....	xi
Índice.....	xii
CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO II - OBJETIVOS.....	2
CAPÍTULO III - MATERIAIS E MÉTODOS	2
CAPÍTULO IV - POLIFENÓIS.....	2
4.1. Biossíntese	6
4.2. Metabolismo dos Polifenóis	8
4.3. Reações Enzimáticas	12
4.4. Estrutura Molecular	13
4.5. Propriedades biológicas de alguns polifenóis.....	15
4.5.1. Flavan-3-óis.....	15
4.5.2. Antocianinas	16
4.5.3. Estilbenos	17
4.5.4. Flavonóis	19
4.6. Papel na Saúde.....	19
CAPÍTULO V - COVID-19.....	23
5.1. Epidemiologia	23
5.2. Estrutura Viral	24
5.3. Propriedades Físico-químicas	26
5.4. Fisiopatologia e Manifestações Clínicas	27
5.5. Fatores de Risco.....	29
5.5.1. Hipertensão Arterial	30
5.5.2. Diabetes	31
5.5.3. Obesidade.....	31
5.5.4. Asma e Alergias	33
5.5.5. DPOC.....	34

5.5.6. Doenças Crônicas Hepáticas	36
5.5.7. Doenças Crônicas Renais	36
5.5.8. Cancro e Quimioterapia	36
5.5.9. Gravidez	37
5.5.10. Imunodeficiência	38
5.6. Complicações	39
5.6.1. Doença Renal Aguda (AKI).....	39
5.6.2. Distúrbios de coagulação	40
5.7. Patogénese	40
5.8. Objetivo da Terapêutica	43
5.9. Terapêutica Farmacológica	44
CAPÍTULO VI - COVID-19 PREVENÇÃO E TERAPÊUTICA COM POLIFENÓIS	45
CAPÍTULO VII - ESTUDO CLÍNICO POLIFENÓIS E COVID-19	48
CAPÍTULO VIII – ENSAIOS CLÍNICOS POLIFENÓIS E COVID-19.....	51
CAPÍTULO IX - CONCLUSÃO	56
BIBLIOGRAFIA.....	57

Índice de Tabelas

Tabela 1- Classes, estrutura molecular, exemplos e atividade antimicrobiana de alguns polifenóis	4
Tabela 2-Ensaio clínico acerca dos efeitos biológicos de alguns polifenóis na COVID-19.	54

Índice de Figuras

Figura 1-Classificação dos Polifenóis.....	3
Figura 2- Passos iniciais comuns durante a biossíntese dos ácidos hidroxicinâmicos e dos flavonoides	6
Figura 3-Passos da biossíntese das subfamílias dos flavonoides	7
Figura 4- Absorção e metabolismo dos polifenóis provenientes da dieta em humanos.	8
Figura 5-Degradação de epicatequinas como exemplo de polímeros de flavan-3-óis	9
Figura 6-Degradação de quercetina como exemplo de glicosídeos de flavonoides	10
Figura 7-Degradação de malvidina-3-glicosídeo, como exemplo de antocianinas.....	11
Figura 8-Reação de oxidação dos polifenóis.....	12
Figura 9-Estrutura molecular dos flavonoides	13
Figura 10-Estruturas químicas representativas das subclasses dos flavonoides	14
Figura 11-Estruturas químicas representativas das subclasses dos não flavonoides	15
Figura 12-Cadeia de transmissão do coronavírus	23
Figura 13-Partícula β -coronavírus.....	25
Figura 14-Genoma do vírus SARS-CoV-2	25
Figura 15-Fatores de risco na COVID-19 severa.....	29
Figura 16-Mecanismos da diabetes e obesidade na COVID-19 severa	32
Figura 17-Possíveis mecanismos que contribuem para o aumento da severidade por DPOC, ILD e PE.....	35
Figura 18-Patogênese da SARS-CoV-2	41
Figura 19-Possíveis mecanismos que ligam o déficit funcional da ACE2 a diferentes respostas ao SARS-CoV-2 em indivíduos jovens VS idosos e / ou com comorbilidades.....	43
Figura 20-Efeitos dos polifenóis em diversos passos do ciclo de vida de SARS-CoV-2	47
Figura 21-Mecanismos de transporte de BACs através das células de absorção intestinal	49
Figura 22-Efeito dos diferentes pH's nos BACs nas diferentes áreas do corpo humano.....	50
Figura 23-Diagrama esquemático de fluxo geral da síntese de BACs.....	51

Índice de Equações

Equação 1- Período médio de incubação e número de reprodução básico (R_0).....	27
--	----

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

Os polifenóis são metabolitos secundários presentes nas plantas, nos vegetais, nas frutas, no chá e no vinho. Na última década, o interesse por estes compostos tem sido crescente, uma vez que possuem atividade antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana, o que traz significantes melhorias para a saúde. Diversos estudos epidemiológicos sugerem que o consumo, a longo prazo, de polifenóis confere proteção contra o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, cancro, diabetes, osteoporose e doenças neurodegenerativas (5).

A COVID-19 é uma patologia caracterizada por uma intensa resposta imunológica, a qual é modulada por stress oxidativo e processos inflamatórios (4).

De modo a monitorizar a progressão da doença, são usados parâmetros laboratoriais como a lactato desidrogenase, procalcitonina, proteína C reativa (PCR) de alta sensibilidade, citocinas pró-inflamatórias, como interleucina (IL) -6, IL-1 β , Krebs von den Lungen-6 (KL-6) e ferritina. O surgimento de uma cascata de citoquinas (*cytokine storm*) e padrões extensos de tomografia computadorizada (TC) do tórax são indicadores de severidade da doença. É de referir que o estatuto socioeconómico, a dieta, o estilo de vida, a localização geográfica, a etnia e os cuidados de saúde primários e secundários influenciam o resultado (2).

É de salientar que a OMS considera que uma dieta equilibrada e uma boa hidratação são fatores fundamentais para o combate à COVID-19. Indivíduos cuja dieta seja saudável, têm um sistema imunitário fortalecido, encontrando-se, por conseguinte, em menor risco de contrair doenças infecciosas e crónicas (6).

Assim, compostos capazes de reduzir o stress oxidativo poderão representar uma nova abordagem terapêutica. Por conseguinte, os polifenóis têm sido alvo de muitos estudos devido às características antioxidantes, anti-inflamatórias e antivirais, entre outras, que possuem (4).

CAPÍTULO II - OBJETIVOS

O objetivo desta monografia é clarificar o papel dos polifenóis na regulação positiva do sistema imunológico, na defesa antioxidante e antiviral em doentes com COVID-19 contra a infecção por SARS-CoV-2. Posteriormente, rever o potencial dessa relação na base de novas terapêuticas eficientes ou adjuvantes para a COVID-19.

Para atingir estes objetivos foi necessário um aprofundamento do entendimento acerca da COVID-19, assim como dos polifenóis para compreender os múltiplos mecanismos que estes possuem no combate desta patologia.

CAPÍTULO III - MATERIAIS E MÉTODOS

Esta monografia é um estudo descritivo de análise da literatura, a qual tem por base a revisão de artigos científicos, que foram selecionados da base de dados PubMed® e Google Scholar. Os principais termos pesquisados foram “polifenóis” e “COVID-19”. Os artigos pesquisados foram publicados entre dezembro 2009 e maio 2021, em inglês. Como critérios de inclusão dos artigos em análise consideraram-se os artigos acerca dos polifenóis publicados depois de 2009 inclusive e acerca da COVID-19 desde março de 2020 a maio 2021. Os critérios de exclusão dos artigos da COVID-19 foram todas as terapêuticas que já não se encontram aprovadas pelas Entidades Reguladoras.

CAPÍTULO IV - POLIFENÓIS

Os polifenóis são metabolitos secundários derivados de plantas, que se encontram sob a forma de glicosídeo, na sua maioria, e/ou em associação com diversos ácidos orgânicos ou ainda com moléculas polimerizadas de elevado peso molecular, tal como os taninos (7).

Os polifenóis constituem um vasto e rico grupo de compostos bioativos fitoquímicos, os quais possuem um papel fundamental na profilaxia de determinadas patologias, tais como doenças cardiovasculares, cancro, osteoporose, diabetes mellitus (DM), e doenças neurodegenerativas. O seu papel protetor não só recai sobre a sua atividade antioxidante como também sobre a capacidade que este possui, no que se refere à inibição de diversas enzimas,

como a telomerase, cicloxigenase e lipoxigenase, e ainda devido à interação que este exibe nas vias de transdução (7).

Os polifenóis possuem propriedades antioxidantes, uma vez que os conjugados, a sua estrutura complexa e os grupos hidroxilo participam na neutralização das espécies reativas de oxigénio, ROS, assim como dos radicais livres (8).

Os polifenóis podem subdividir-se em três grandes grupos: flavonoides, ácidos fenólicos e não flavonoides, sendo que estes últimos se destacam em estilbenos, lignanos e ácidos elágicos (8) (Figura 1).

Os flavonoides por sua vez podem subdividir em diversos grupos tais como flavan-3-óis, flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanonas e antocianinas (1) (Figura 1).

Os ácidos fenólicos, por sua vez, podem subdividir-se em derivados do ácido benzoico tal como o ácido gálico e ácido protocatecuico (PCA) e derivados do ácido cinâmico. Este último consiste principalmente em ácido cumárico, cafeico e ferúlico e ainda em estilbenos secundários, cujos compostos que melhor representam este subgrupo são os lignanos terciários e o resveratrol. Este último apresenta-se tanto nas formas isoméricas *cis* como *trans* (7).

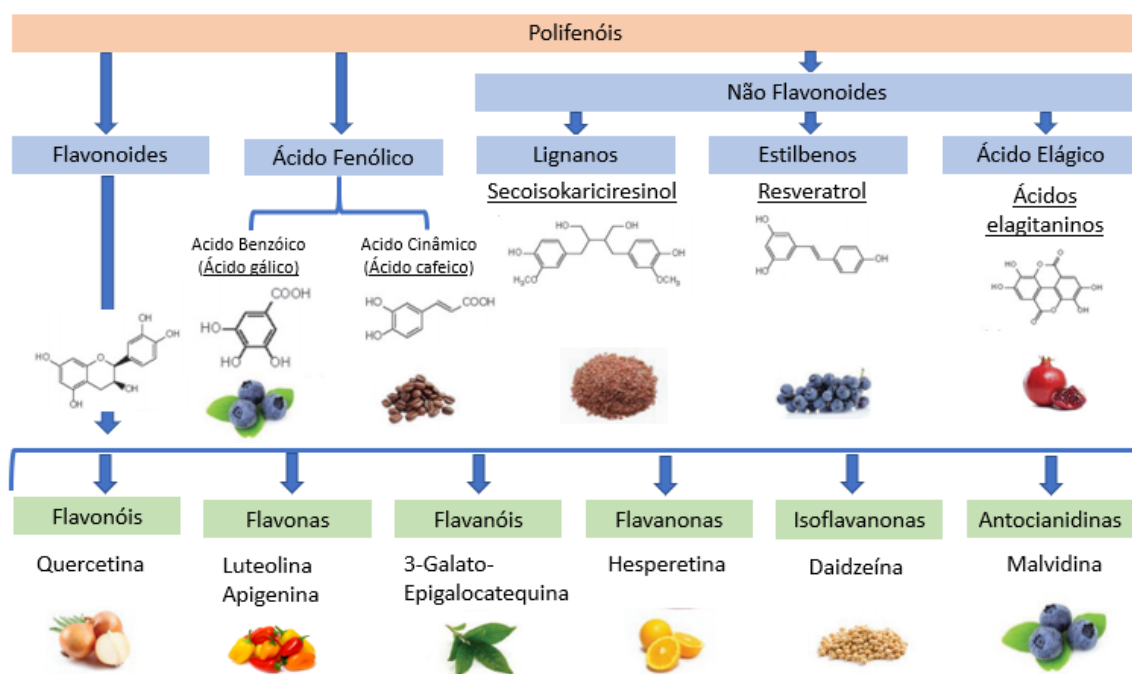
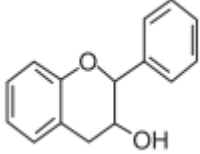
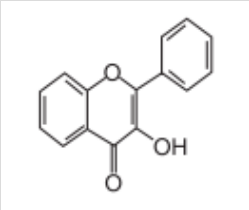
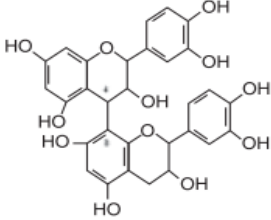
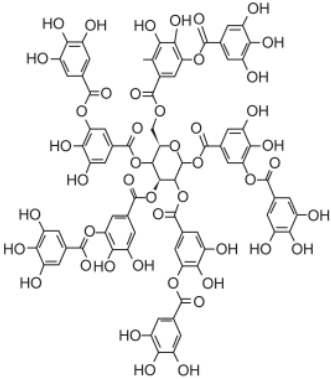
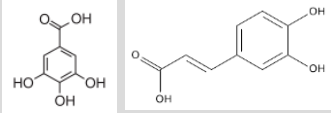
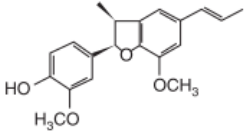


Figura 1-Classificação dos Polifenóis.

Cada grupo diferencia-se com base no estado de oxidação do anel pirano central. Foram identificados aproximadamente 4.000 flavonoides em vegetais, frutas e em bebidas à base de plantas, como chá e vinho (7) (Tabela 1).

Tabela 1- Classes, estrutura molecular, exemplos e atividade antimicrobiana de alguns polifenóis.

Polifenóis	Estrutura Molecular	Alimentos	Atividade	Ação sobre
Flavan-3-óis		Avelãs, cacau, uvas, chá e legumes	Antibacteriana	<i>V.cholerae</i> ; <i>S.mutans</i> ; <i>C.jejuni</i> ; <i>C.perfringes</i> ; <i>E.coli</i> ; <i>B.Cereus</i> ; <i>H.pylori</i> ; <i>S.aureus</i> ; <i>L.acidophilus</i> ; <i>A.naeslundii</i> ; <i>P.oralis</i> ; <i>P.gingivalis</i> ; <i>P.melaninogenica</i> ; <i>F.nucleatum</i> ; <i>C.pneumonia</i>
			Antiviral	<i>Adenovirus</i> ; <i>Enterovirus</i> ; <i>Flu virus</i>
Flavonóis		Maçãs, cebola, alcaparras, brócolos, toranja e ameixas	Antifúngica	<i>Candida albicans</i> ; <i>Microsporium gypseum</i> ; <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ; <i>Trichophyton rubrum</i> ;
Taninos condensados		Framboesas, mirtilos, uva	Antibacteriana	<i>S.mutans</i> ; <i>E.coli</i> ; <i>S.aureus</i> ;
			Antiviral	<i>Influenza A virus type - 1</i> ;

				<i>Herpes simplex virus (HSV);</i>
Taninos hidrolisáveis		Folhas, galhos, cascas e madeiras de várias árvores como por exemplo: <i>Terminalia, Phyllanthus e Caesalpinia</i>	Antibacteriana	<i>Different strains of: Salmonella; Staphylococcus; Helicobacter; E.coli; Bacillus Clostridium; Campylobacter; Lysteria;</i>
			Antiviral	<i>Epstein-Barr vírus (EBV); Herpes vírus HSV -1 e HSV -2;</i>
			Antifúngica	<i>Candida parapsilosis;</i>
Ácido fenólico		Fruta, café, vinagre, azeite, cacau	Antibacteriana	<i>S.aureus; L.monocytogenes; E.coli; P.aeruginosa;</i>
Neolignanos		Linhaça	Antibacteriana	<i>Different strains of: Mycobacterium tuberculosis</i>

4.1. Biossíntese

Os flavonoides são produzidos em locais específicos, conforme a sua função. Assim podem ser produzidos nos cloroplastos, quando a função é a defesa contra danos oxidativos durante a fotossíntese; outros podem ser produzidos nos órgãos sexuais como defesa contra a radiação UV; na raiz para que ocorra simbiose fúngica e bacteriana, ou, por fim, como mecanismo de defesa contra vírus, bactérias, fungos ou herbívoros (9).

Todos os flavonoides são sintetizados pela via fenilpropanoide. O primeiro passo desta via é a conversão de L-fenilalanina em ácido cinâmico, através da enzima fenilalanina amonioliase (PAL). De seguida, através da enzima 4-cumarato-CoA ligase (4CL), forma-se p-cumaroil-CoA. Tanto o ácido cumárico como o p-cumaroil-CoA são os precursores dos ácidos hidroxicinâmicos e flavonoides, respetivamente (9) (Figura 2).

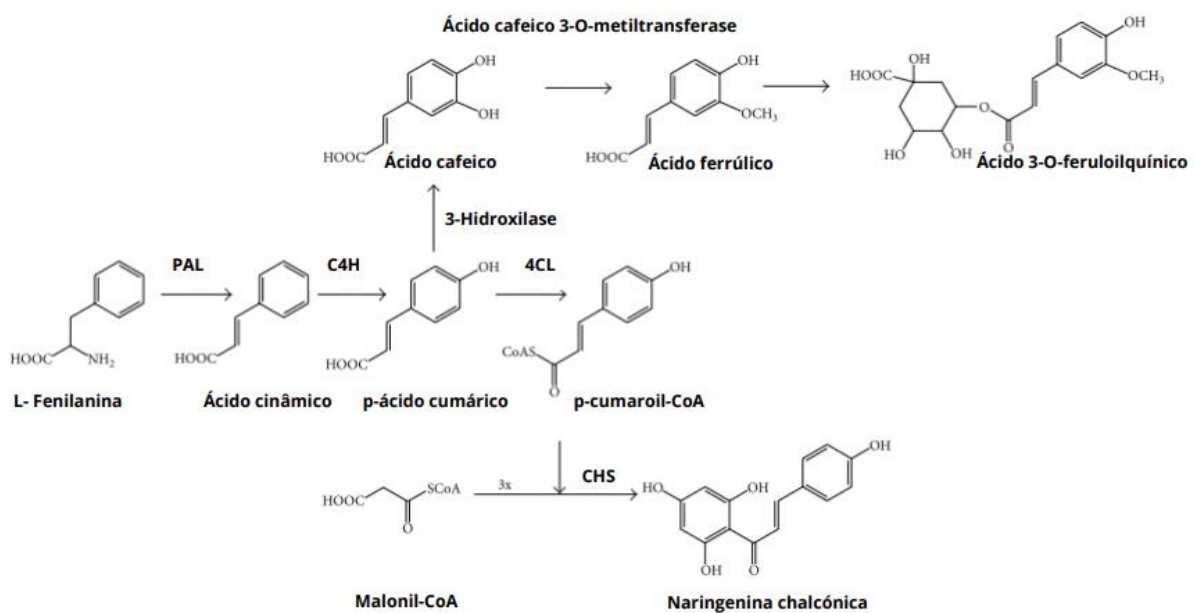


Figura 2- Passos iniciais comuns durante a biossíntese dos ácidos hidroxicinâmicos e dos flavonoides (9).

No que concerne à biossíntese de flavonoides, a chalcona sintase (CHS) a partir de uma molécula de p-cumaroil-CoA e três moléculas de malonil-CoA, forma uma chalcona bicíclica como a naringenina chalcónica. As chalconas são substratos da enzima chalcona isomerase (CHI), a qual é responsável por fechar o anel B destes compostos, e por conseguinte, forma-se as flavanonas, como as naringeninas originárias dos citrinos (Figura 3) (9).

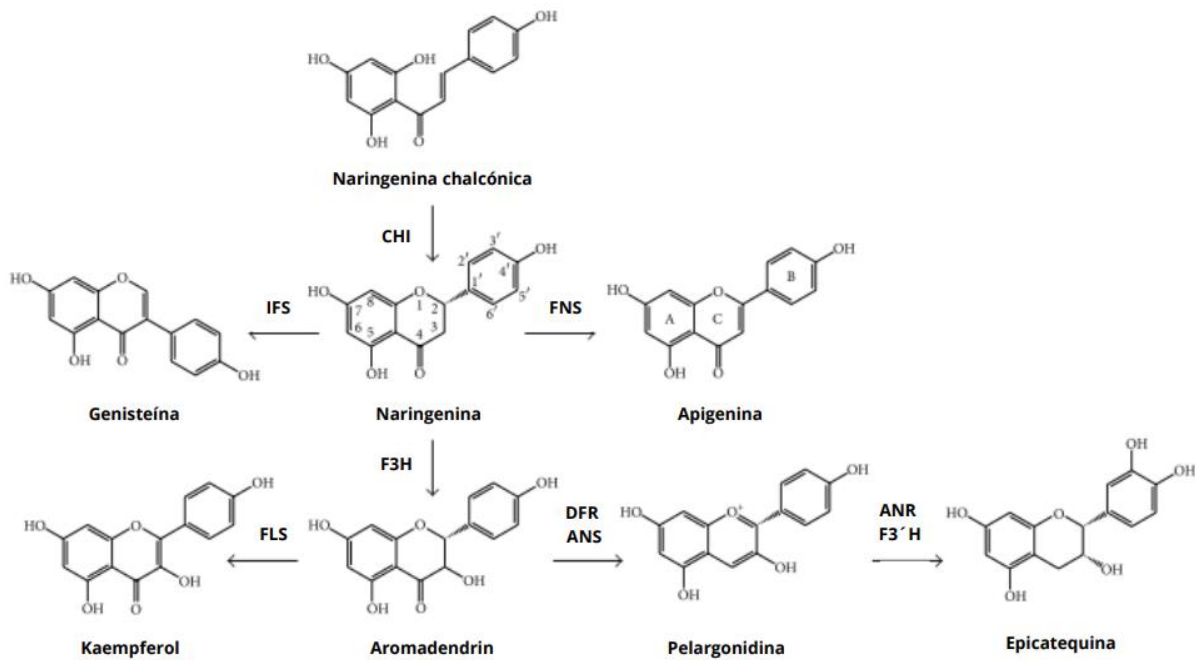


Figura 3-Passos da biossíntese das subfamílias dos flavonoides (9).

Todas as subfamílias de flavonoides derivam do esqueleto das flavononas, composto por 15 carbonos. A enzima presente na reação enzimática determina o composto a formar, e como tal, as flavonas sintases (FNS) dá origem a flavonas como o aipo; as isoflavonas sintases (IFS) a isoflavonas como a soja; flavanonas-3-hidroxilases (F3H) que produzem dihidroflavonois como as aromadendrininas dos pinheiros; flavonois sintases (FLS) dão origem a flavonois como a quercetina na cebola ou kaempferol nas alcaparras; dihidroflavonois redutases (DFR) e antocianinas sintases (ANS) originam antocianidinas como pelargonidinas nas flores vermelhas e por fim as antocianidinas redutases (ANR) levam à formação de flavan-3-óis como as epicatequinas do côco (Figura 3) (9).

4.2. Metabolismo dos Polifenóis

As biotransformações que ocorrem nos polifenóis, ao longo do trato gastrointestinal, são determinadas por dois fatores principais. Um é a estrutura específica da subfamília dos polifenóis, sendo que esta é responsável pela ocorrência de apenas algumas transformações através de enzimas intestinais e pelas espécies da microbiota intestinal. Consequentemente, esta estrutura química vai restringir a variedade de possíveis compostos bioativos de serem absorvidos. O segundo fator é a riqueza da microbiota intestinal, uma vez que algumas biotransformações de polifenóis surgem, devido a uma vasta variedade de espécies microbianas. Porém, outras reações químicas mais específicas requerem a presença de espécies particulares ou de cadeias com determinada codificação de genes para enzimas precisas, como as responsáveis pela formação de urolitinas e equol (9).

As porções dos açúcares são clivadas do esqueleto dos compostos fenólicos no intestino delgado e absorvidas neste mesmo sítio. As enzimas lactase florizina hidrolase (LPH), presente na membrana dos enterócitos e a glucosidase (CBG), presente no citosol, hidrolisam os flavonoides glicosilados, e posteriormente, as agliconas entram nas células epiteliais por difusão passiva (Figura 4) (9).

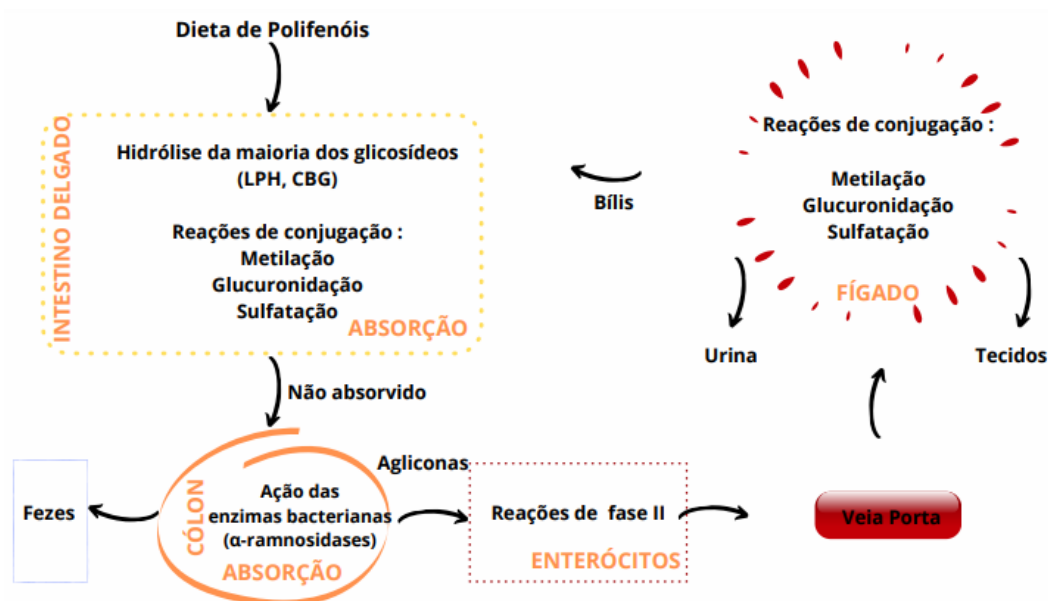


Figura 4- Absorção e metabolismo dos polifenóis provenientes da dieta em humanos.

Contudo, os flavonoides quando se encontram ligados a porções de ramnose são encaminhados para o cólon com o propósito de serem hidrolisados pelas α -ramnosidases, de modo a serem absorvidos (9).

Os flavan-3-óis nunca são glicosilados, uma vez que sofrem acetilação pelo ácido gálico. Estes são absorvidos ao nível dos enterócitos sem sofrerem desconjugação nem hidrólise. Os seus ésteres de galato são catabolizados pela microbiota do cólon. Uma vez que os ésteres de galato iniciais foram metabolizados, as agliconas sofrem uma abertura do anel C, dando origem a difenilpropan-2-diol, que é posteriormente convertido em 5 - (3', 4'-dihidroxifenil) - γ -valerolactona. Este anel de lactona abre e dá origem ao ácido 5 - (3,4-dihidroxifenil) valérico. (Figura 5). As bactérias responsáveis por essas reações metabólicas pertencem ao género *Bifidobacterium* e *Clostridium*. As populações do cólon de *Bifidobacterium* encontram-se aumentadas em indivíduos que consomem elevadas quantidades de flavan-3-óis, o que aumenta ainda mais os benefícios do consumo de flavan-3-óis (9).

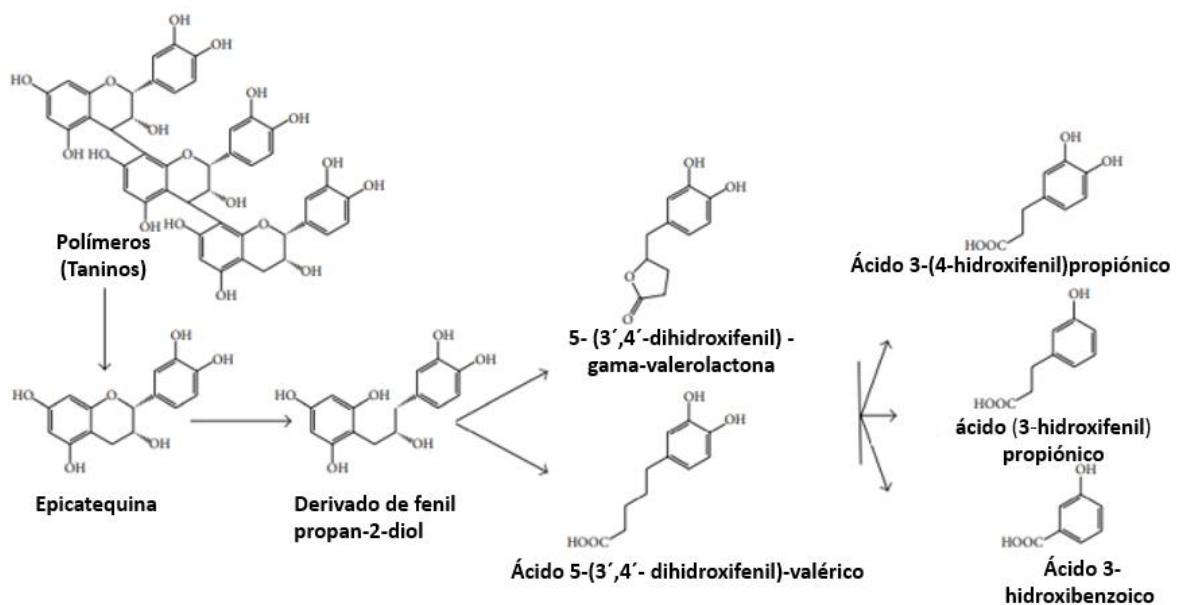


Figura 5-Degradação de epicatequinas como exemplo de polímeros de flavan-3-óis (9).

No que se refere aos flavonóis, o tipo de glicosilação que ocorre inicialmente afeta a sua degradação destes no intestino. O metabolismo de di e trissacarídeos é muito mais lento do que o de monossacáridos. A posição dos grupos hidroxilo também pode influenciar a sua degradação, sendo que os flavonóides que não possuem grupos hidroxilo nas posições C4, C5

e C7 são degradados mais lentamente. O tipo de ligação glicosídica também influencia a reação. Por exemplo, o metabolismo de uma ligação C-glicosídica aparenta ser muito mais lento do que a hidrólise de uma ligação O-glicosídica. Tal é de extrema importância no ponto de vista de um nutracêutico, uma vez que os compostos de degradação lenta têm uma maior biodisponibilidade do que aqueles que são degradados numa taxa mais rápida ao nível do cólon. Uma vez metabolizado em agliconas, os flavonóis são amplamente degradados por outra microbiota do cólon, dando origem a compostos fenólicos mais simples derivados do metabolismo do anel A e B, após o anel C do flavonóide ter sido aberto. A quebra do anel C ocorre em posições diferentes (entre C1 e C2, entre C3 e C4, ou entre C4 e C10), originando desta forma um grande número de compostos fenólicos simples (Figura 6) (9).

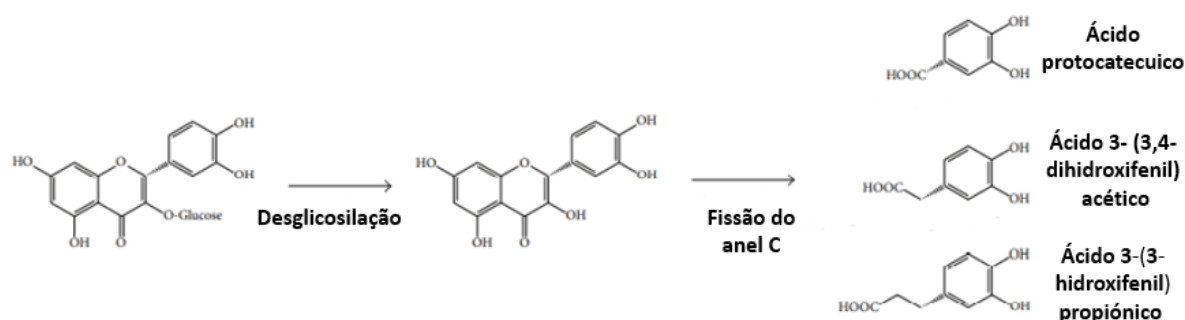


Figura 6-Degradação de quercetina como exemplo de glicosídeos de flavonóis (9).

As proantocianidinas são polímeros de elevado peso molecular, razão pela qual só podem ser absorvidas ao nível do intestino grosso. Os ácidos hidroxicinâmicos são usualmente esterificados a açúcares, ácidos orgânicos e lípidos. Uma vez que o ser humano não possui esterases para quebrar estas ligações, o sítio principal para o seu metabolismo é o cólon, apesar de um terço do metabolismo ocorrer no intestino delgado. Ao contrário de outros flavonóides, as antocianidinas agliconas não sofrem um extenso metabolismo e portanto, a sua biodisponibilidade é muito baixa (9).

Por exemplo, a incubação de malvidina-3-glicosídeo (de extrato de uva) com bactérias fecais resulta na formação de ácidos gálico, ácido seringico e p-cumárico (Figura 7) (Tabela 1).

Algumas espécies responsáveis por esta degradação são *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* (9).

Todas as antocianinas e os seus metabolitos aumentam significativamente o crescimento de *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* e *Enterococcus spp.* Conclui-se assim que as antocianinas, tal como os seus metabolitos realizam uma alteração positiva na microbiota bacteriana intestinal (9).

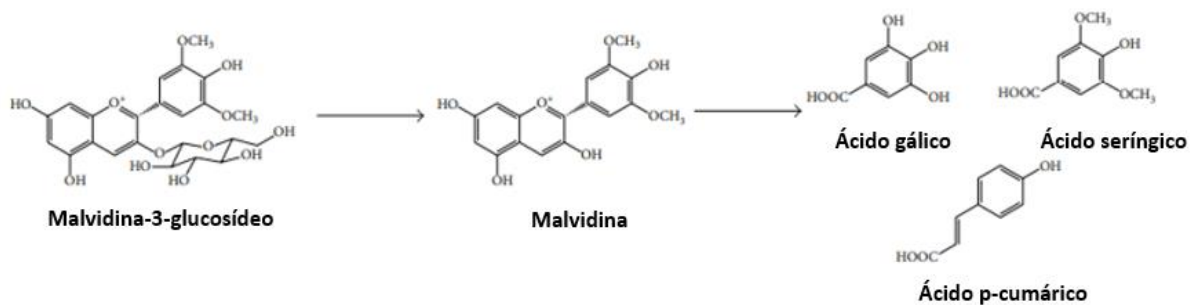


Figura 7-Degradação de malvidina-3-glicosídeo, como exemplo de antocianinas (9).

Os elagitaninos são polímeros derivados dos ácidos hidroxicinâmicos. As enzimas LPH e CBG não conseguem degradá-los, e como tal estes não conseguem ser absorvidos no intestino delgado. Posto isto, os elagitaninos são metabolizados no cólon (Figura 5) (9).

Formam-se agliconas, as quais são extensivamente metabolizadas pela microbiota do cólon, levando à produção de diversos ácidos hidroxifenilacéticos. Após a absorção no intestino delgado da aglicona formada, esta sofrerá metabolização de fase II ao nível dos enterócitos (Figura 5) (9).

As reações de fase II que ocorrem são a metilação ao nível do C3' e C4' pela COMT; sulfatação no C3', C4', C5' ou C7' pelas sulfotransferases (SULT) e por último glucuronidação pelas UDP-glucuronosiltransferases (Figura 5) (9).

Posteriormente, os produtos sintetizados passam para a circulação sistémica através da veia porta, e desta forma, chegam ao fígado, onde provavelmente são sujeitos a eventuais reações de fase II até serem secretados pela urina (Figura 5) (9).

Alguns dos conjugados formados no fígado são posteriormente excretados sob a forma de componentes da bÍlis, voltando de novo à circulação enterohepática e eventualmente os compostos desconjugados são regenerados pelas enzimas do microbioma intestinal antes de serem reabsorvidos de novo. Em contrapartida, os metabolitos não absorvidos são eliminados pelas fezes (Figura 5) (9).

Os polifenóis podem alterar e influenciar a composição do microbioma intestinal de cada indivíduo. Este varia de indivíduo para indivíduo devido a fatores genéticos e ambientais, sendo que é possível distinguir fenótipos com base na capacidade de metabolização individual de determinados polifenóis (1).

É de concluir que as bactérias do cólon desempenham um papel fundamental, no que concerne à absorção dos flavonoides, compostos polifenólicos e fenólicos, pois determinam a biodisponibilidade destes na circulação sistémica (1).

4.3. Reações Enzimáticas

Existem dois tipos principais de reações enzimáticas dos polifenóis: oxidação e hidrólise (10).

Aquando da oxidação dos polifenóis, através do polifenol oxidase (PPO), formam-se quinonas. (Figura 8) O escurecimento enzimático é uma reação que ocorre nas frutas e nos vegetais, refletindo-se negativamente na cor, no sabor e no valor nutricional (10).

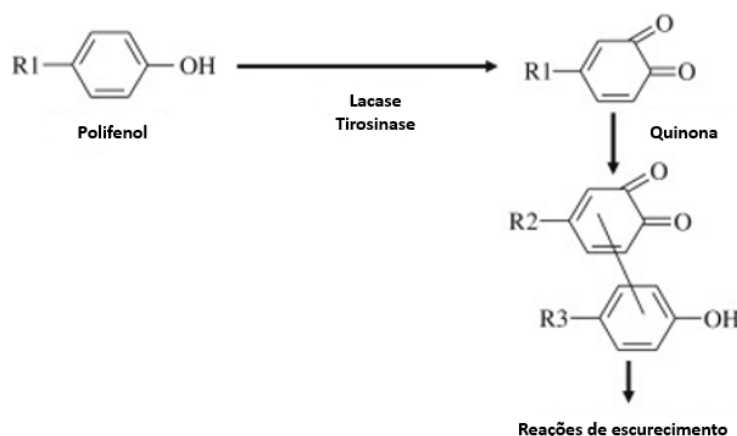


Figura 8-Reação de oxidação dos polifenóis (10).

No que se refere à hidrólise, as hidrolases clivam as ligações éster e glicosídicas (10).

Existem várias enzimas com atividade hidrolítica no vinho. Têm origem fúngica e são derivados da microflora da uva ou de preparações enzimáticas. Estas enzimas libertam essencialmente agliconas de flavonóis e antocianinas, através da β -glicosidase, o que leva à precipitação de agliconas de flavonóis insolúveis ou à redução da cor causada pela instabilidade das antocianinas (10).

Os ácidos cafeico e p-cumárico livres também podem ser obtidos como resultado da atividade da esterase. A atividade do tanino acil hidrolase leva à clivagem das ligações éster com a libertação de ácido gálico do monómero ou polímero (10).

A hidrólise pode ocorrer espontaneamente em meio ácido, embora numa taxa mais lenta (10).

4.4. Estrutura Molecular

Os polifenóis são classificados com base no número de anéis fenólicos e nos elementos estruturais que unem esses mesmos anéis entre si (5).

Os flavonóides são os polifenóis mais abundantes na dieta humana e possuem uma estrutura molecular básica comum, a qual consiste em dois anéis aromáticos, unidos por três átomos de carbono que formam um heterociclo oxigenado (Figura 9) (5).

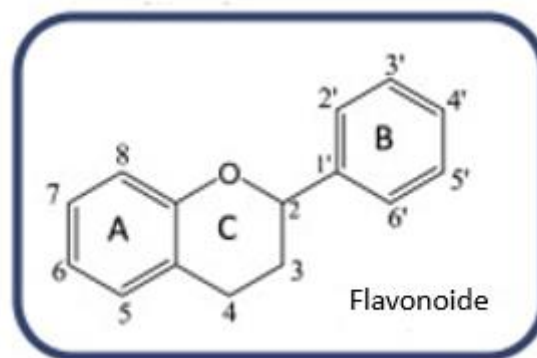


Figura 9-Estrutura molecular dos flavonóides.

Com base na variação do tipo de heterociclo envolvido, os flavonóides são divididos em seis subclasses principais: flavonóis, flavanonas, flavonóis, flavonas, antocianinas e isoflavonas. As diferenças individuais dentro de cada grupo surgem da variação no número e no arranjo do grupo hidroxilo, assim como da sua extensão de alquilação e/ou glicosilação (5).

Assim, de entre os flavonoides, os flavonóis possuem um grupo 3-hidroxipiran-4-ona no anel C. Já as flavanonas têm uma ligação carbono-carbono insaturada no anel C. As flavonas não possuem um grupo hidroxilo na posição 3 do anel C. As antocianinas apresentam um íon oxônio no anel C. Por fim, as isoflavonas possuem um anel B ligado ao anel C na posição 3, em vez da posição 2, sendo que tal surge noutros flavonoides (Figura 10) (5).

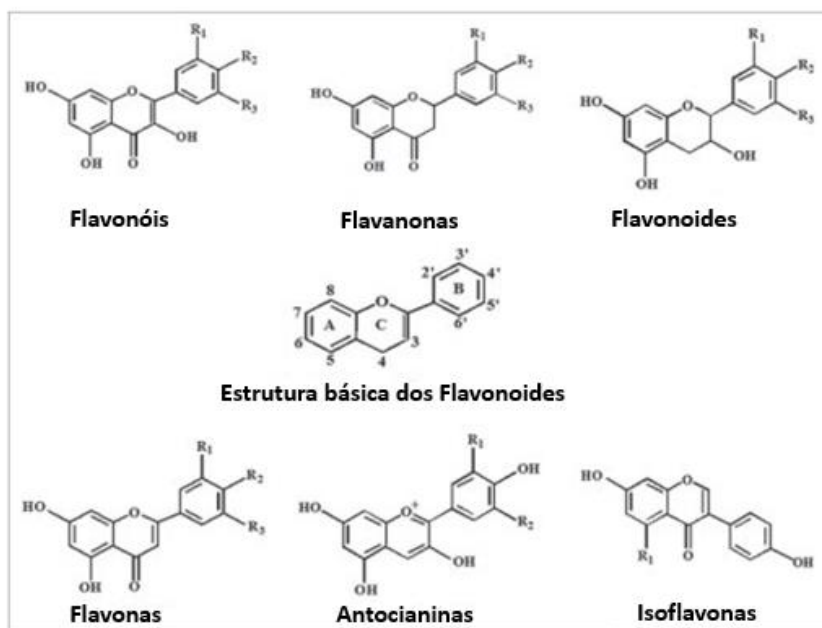


Figura 10-Estruturas químicas representativas das subclasses dos flavonoides (5).

De entre os não-flavonoides, os estilbenos possuem dois *moieties* de fenil ligados entre si por uma ponte de metileno de dois carbonos. Os lignanos são compostos difenólicos que contêm uma estrutura de 2,3-dibenzilbutano, a qual é formada pela dimerização de dois resíduos de ácido cinâmico (Figura 11) (5).

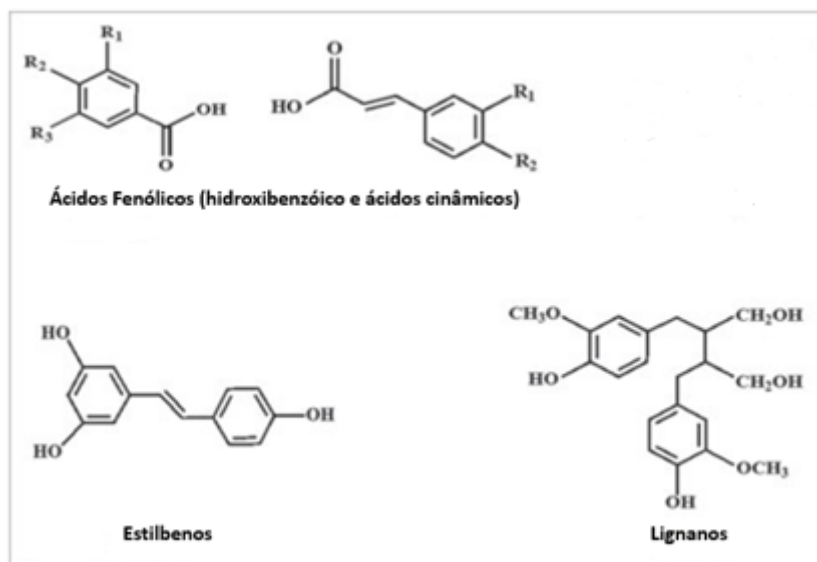


Figura 11-Estruturas químicas representativas das subclasses dos não flavonoides (5).

4.5. Propriedades biológicas de alguns polifenóis

4.5.1. Flavan-3-óis

Os flavan-3-óis encontram-se presentes num elevado número de alimentos como avelãs, cacau, uvas, chá e legumes. Diversos estudos observacionais têm vindo a demonstrar a relação positiva existente entre os polifenóis e benefícios a nível da saúde, visto que estes reduzem o risco de diabetes e patologias cardiovasculares (1).

O consumo regular de cacau encontra-se associado a possíveis efeitos benéficos a nível da pressão arterial, uma vez que os flavanóis têm propriedades antioxidantes, principalmente através do aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO). Estes possuem ainda propriedades anti-inflamatórias, o que alterará a rigidez arterial, e contêm teobromina em

elevadas concentrações, a qual reduz a pressão arterial ao inibir a fosfodiesterase¹. Contudo, os estudos de longo termo existentes são difíceis de analisar, uma vez que as doenças do foro cardiovascular se tratam de doenças crónicas (11).

4.5.2. Antocianinas

As antocianinas são flavonoides presentes nos frutos vermelhos, nomeadamente nos mirtilos, framboesas, uvas vermelhas e cerejas. Estas exercem a sua função anti-inflamatória após serem metabolizadas pelo microbioma, o que forma metabolitos ativos, os quais têm efeitos benéficos no que se refere à pressão arterial (1).

Estes mesmos metabolitos podem alterar as vias de sinalização envolvidas na inflamação vascular, inibindo a aterosclerose, melhorando o fluxo sanguíneo, aumentando ou reduzindo a síntese de NAD(P)H oxidase e inibe a função plaquetária (12).

A.Cassidy *et al.* observaram uma relação inversa entre o risco de enfarte do miocárdio e o consumo de alimentos ricos em antocianinas, nomeadamente morangos e mirtilos. Neste estudo, estudaram-se 116.430 mulheres com idades entre 25 e 42 anos, sendo que cada participante preenchia um questionário sobre o estilo de vida e historial clínico e recebia um questionário de acompanhamento a cada dois anos para registar doenças recém-diagnosticadas e atualizar o estilo de vida. Todas as participantes que possuíam doenças cardiovasculares, cancro ou uma ingestão calórica total fora dos parâmetros (<500 ou > 3500 kcal / dia) foram excluídas, permanecendo 93.600 mulheres. A partir destas, constatou-se que consumir alimentos ricos em antocianinas, mais de três vezes por semana leva a uma redução de 34% na probabilidade de sofrer um evento cardiovascular, quando comparado com indivíduos que os consomem apenas uma vez por mês. Concluíram ainda que estes compostos bioativos reduzem o risco de enfarte agudo do miocárdio tanto em mulheres jovens como em mulheres de meia-idade (13).

Segundo A. Cassidy *et al.* (11) as evidências científicas de que as flavanonas e as antocianinas reduzem o risco cardiovascular nas mulheres são vastas, enquanto que nos homens a relação é desconhecida. Como tal, procederam à investigação, e constataram que em estudos

¹ A ausência de fosfodiesterase induz a lipólise.

de coortes prospetivos, o consumo de antocianinas no homem reduz o risco de enfarte do miocárdio não fatal em 14 %, enquanto que o consumo de flavanonas reduz o risco de AVC isquémico em 22%. Este estudo mostra independência entre os fatores de risco dietéticos e não dietéticos medidos (12).

H. Huang *et al.* revelaram que há uma redução significativa dos níveis de LDL, PAS, glucose em jejum, HbA1c, IMC e TNF- α , aquando do aporte de frutos vermelhos. Em contrapartida, a redução dos níveis de CT, TG e ApoA e ApoB, HDL, PAD, LDL oxidado, IL-6, PCR, molécula de adesão intercelular solúvel – 1 (sICAM-1), e molécula de adesão de células vasculares -1 (sVCAM – 1) não foi significativa (14).

4.5.3. Estilbenos

O resveratrol (RES) é um estilbeno (3,5,4'- trihidroxi-trans-estilbeno) com uma atividade quimiopreventiva bioativa (15).

É encontrado principalmente na casca da uva e no amendoim. Este estilbeno tem como propriedades biológicas a prevenção e redução de uma extensa variedade de doenças tais como doenças neurodegenerativas, cancro e doenças cardiovasculares. A maioria tem fitoalexinas antifúngicas, compostos estes sintetizados face a uma infeção ou lesão (5) (16).

O RES, presente no vinho tinto, deu origem ao chamado Paradoxo Francês há cerca de 20 anos. A população francesa possuía um risco de desenvolver doenças cardiovasculares consideravelmente inferior ao dos restantes países ocidentais, apesar de partilharem todos os mesmos fatores de risco. A razão para tal reside no consumo regular de vinho tinto por parte da população francesa, sendo que o RES se encontra associado a uma redução do stress oxidativo e melhoria da função endotelial tanto em indivíduos saudáveis como em indivíduos com síndrome coronária aguda (16).

O RES é uma fitoalexina, uma substância lipofílica, que provém do metabolismo secundário das plantas, quando estas entram em stress e frequentemente atinge concentrações suficientes para inibir o desenvolvimento de fungos e bactérias (16).

Assim, os níveis de fitoalexinas são, geralmente, muito baixos e encontram-se dependentes das variações ambientais. Como tal, um exemplo ilustrativo é o caso das uvas, as

quais apenas têm níveis de fitoalexinas elevados se ultrapassarem alterações climáticas adversas. Posto isto, os níveis de fitoalexinas são bastante variáveis e imprevisíveis (16).

A maioria dos estudos *in vitro* levam a concluir que o resveratrol possui uma atividade apoptótica e bloqueadora do ciclo celular, nomeadamente na fase G₀ e G₁. O RES demonstrou um aumento da concentração das ciclinas A e E nas linhagens de células cancerígenas com a consequente paragem do ciclo celular nas fases S, G₂, e M. O RES tem ainda a capacidade de ativar a via dependente do P53, assim como a capacidade de inibir a proteína do retinoblastoma (pRb), sendo esta última proteína supressora de tumores, que atuará na fase de transição entre a fase G₁ e a fase de duplicação (16).

O RES possui a capacidade de eliminar grupos hidroxilo e superóxido, e ainda radicais induzidos por metal. Tem também a capacidade de inibir a formação de espécies reativas de oxigénio (ROS), o que consequentemente levará à inibição de radicais livres. A razão pela qual ocorre inibição de ROS reside na presença de NADPH oxidases (NOX) e enzimas antioxidantes no meio e os seus substratos como superóxido dismutase (SOD), tioredoxina, heme oxigenase-1 (HO-1), glutationa peroxidase-1, (GPx1) e catalase (16).

O RES tem ainda a capacidade de melhorar a função endotelial através da estimulação da produção de NO, aumentando a síntese de óxido nítrico sintase, pela via proteína quinase ativada pela via 5' adenosina monofosfato (AMPK), ou pela quinase extracelular regulada por sinal (ERK-1 e 2), mediada pela fosforilação em ser1177 (16).

É estimado que o RES possa ativar a enzima sirtuin 1² (SIRT1), indiretamente pela via AMPK, e o fator nuclear eritróide 2 (NF-E2) e o fator nuclear relacionado 2 (Nrf2), o que é crucial para que o resveratrol possua efeitos citoprotetores a nível do sistema cardiovascular (16).

O RES consegue reverter H_2O_2 , TNF- α e ROS induzidas por extrato de fumo de cigarro, ativar o NF- κ B e controlar a síntese de marcadores inflamatórios como IL-6, TNF- α , MCP-1 e iNOS. RES reduz também a síntese de moléculas de adesão como VCAM-1 e ICAM-1, através da inibição de p38 pela via de sinalização MAPK. O RES suprime a expressão e atividade de COX-2 e a redução da sinalização de prostaglandinas. Tem ainda a característica de aumentar a síntese de proteoglicanos nos condrócitos, e encontra-se associado à modulação lipídica. O

² A enzima sirtuin é uma proteína deacetilase, que regula o metabolismo, as respostas ao stress e a processos de envelhecimento.

RES em concentrações da ordem dos micromolares tem a particularidade de aumentar a lipólise e reduzir a lipogénese em adipócitos maduros 3T3-L1 (16).

O RES possui ainda a capacidade de inibir a agregação plaquetária inclusive com concentrações na ordem dos micro e nanomolares. Tal deve-se à inibição da via p38 MAPK e da consequente ativação de NO e monofosfato de guanosina cíclico (GMPc), o que levará à inibição da fosfolipase C e/ou à ativação da proteína quinase C (PKC). Posteriormente, as concentrações intracelulares de cálcio e de radicais livres são reduzidas, e assim ocorre a inibição a agregação plaquetária (16).

4.5.4. Flavonóis

A quercetina é um flavonol, presente maioritariamente na casca da maçã, cujas propriedades benéficas a nível cardiovascular foram testadas clinicamente. Foram dadas a ingerir maçãs a um dado grupo por um período agudo de quatro semanas com casca, ou seja, maçãs com elevado teor em flavonóides, e dadas a um outro grupo apenas maçã sem casca (1).

Como resultado final, concluiu-se que a ingestão de maçãs com casca demonstrou um aumento significativo na dilatação mediada por fluxo (FMD), da artéria braquial, em comparação com o grupo que ingeriu maçã sem casca. É de salientar que a redução de risco cardiovascular é ainda mais acentuada quando o consumo de maçã com casca é crónico (1).

4.6. Papel na Saúde

Os polifenóis possuem propriedades muito benéficas na saúde de cada indivíduo, contudo estas encontram-se dependentes da biodisponibilidade destes compostos (17).

Além do papel que desenrolam ao nível do sistema cardiovascular, os polifenóis demonstraram benefícios na função cognitiva, nomeadamente no que se refere à linguagem e à memória. Tais evidências basearam-se num estudo prospetivo que perdurou 13 anos, no qual foram tidos em conta fatores de confundimento como parâmetros vasculares, consumo de álcool e padrões dietéticos (18).

Os terpenoides são considerados a componente ativa de variadíssimos extratos de ervas com efeito ao nível do SNC, nomeadamente a raiz de valeriana, a qual contém iridóides e sesquiterpenóides, ginseng panax, o qual é rico em triterpenóides e hortelã e salvia, nas quais são predominantes monoterpénóides voláteis. Todos estes grupos estruturais de terpenos exercem efeitos mecánísticos marcadamente diferentes, relevantes para a função cerebral, nomeadamente a função cognitiva e ansiedade aguda (1).

Em estudos observacionais, o consumo de chá demonstrou apresentar uma relação de linearidade inversa com a incidência de patologias de foro cognitivo. Noutros estudos observacionais, também se concluiu que o consumo de chá verde e preto se encontra relacionado com a redução de risco de vir a desenvolver algum comprometimento cognitivo. É ainda de salientar que o consumo frequente de chá reduz o risco de sofrer depressão. Posto isto, é de concluir que os produtos ricos em polifenóis consistentemente aumentam o fluxo sanguíneo cerebral, sendo que modulam a atividade cerebral após doses singulares e após um longo período de suplementação. Determinados polifenóis encontrados no chá verde e preto possuem também propriedades antibacterianas contra determinadas bactérias como *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, e *Pseudomonas aeruginosa*, e possuem ainda atividade antiviral contra o vírus da Hepatite C e HIV (1).

Em contrapartida, também existem polifenóis que estimulam o crescimento bacteriano de bactérias benéficas no microbioma intestinal tais como *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Akkermansia muciniphila*, e *Faecalibacterium prausnitzii*. Um exemplo ilustrativo é o pó de mirtilos bebível, o qual é rico em antocianidinas, e que ao ser consumido durante seis semanas demonstra um aumento significativo de *Lactobacillus Acidophilus* e *Bifidobacterium spp* em comparação com o placebo (1).

Em estudos intervencionais de longo termo, também se constatou que os flavan-3-óis apresentam benefícios a nível cognitivo, nomeadamente em dois estudos com metodologias idênticas conduzidas em idosos saudáveis e idosos com algum comprometimento cognitivo. Foram dadas a consumir bebidas com baixa concentração de flavan-3-óis, o controlo, com concentração média, 520 mg e com elevada concentração, 990 mg, durante oito semanas. Posteriormente, concluiu-se que quando consumindo elevadas concentrações, houve uma redução da resistência de insulina, pressão arterial, peroxidação lipídica, melhoramento na atenção e execução de tarefas. Resultados idênticos foram obtidos na população cujo consumo de flavan-3-óis era médio, contudo não foram detetadas melhorias no que concerne à atenção.

Estes mesmos benefícios dos flavan-3-óis foram suportados por um outro estudo composto por 40 participantes idosos, os quais foram suplementados com 494 mg de flavan-3-óis durante 12 semanas, mostrando melhorias significativas a nível cognitivo. É de referir que os níveis de BDNF³ se encontravam aumentados. Os flavanóis, presentes no cacau, apresentam efeitos positivos a nível vascular, nomeadamente no que se refere à FMD, sendo que os níveis plasmáticos de metabolitos de epicatequinas encontram-se aumentados (1).

Dados científicos evidenciam que a biodisponibilidade epigalocatequina- da 3-galato (ECGC) está aumentada aquando do consumo de cafeína (1). Tal deve-se ao facto de a cafeína suprimir a conjugação da ECGC, aumentando, por conseguinte, as suas concentrações plasmáticas. Foi ainda sugerido que os efeitos termogénicos da ECGC presente nos extratos de chá verde se devem aos flavanóis, à cafeína e aos efeitos combinados de ambos sobre a norepinefrina. O aumento de termogénese ocorre devido ao efeito combinado no qual os flavanóis inibem a COMT, prolongando a duração de retenção de norepinefrina na fenda sináptica, e a cafeína inibe a ação de fosfodiesterase no AMPc nas células de tecido adiposo, levando ao prolongamento do efeito de norepinefrina na termogénese (1).

Os flavonóides como quercetina, epicatequina e galato de epigalocatequina protegem o α -tocoferol da oxidação durante a digestão, o que au as concentrações plasmáticas e hepáticas de α -tocoferol. A título ilustrativo, determinados flavonoides possuem um papel na glucorregulação; na redução da apoptose; na promoção da proliferação de células β e na redução da resistência à insulina; na inflamação e no stress oxidativo no músculo e noutras células. É de referir que o consumo de sumo de romã é capaz de modular a resposta glicémica pós-prandial, contudo os polifenóis presentes na romã sob a forma de suplemento alimentar não influenciam a resposta glicémica pós-prandial. A razão para tal deve-se ao possível facto de haver uma mistura pobre do polifenol punicalagina na forma de extrato no estômago e no intestino (1). No que se refere aos efeitos dos polifenóis a nível da saúde cardiometabólica, estes vieram a revelar benefícios tanto nas doenças cardiovasculares como na DM tipo II, sendo que foram constatados possíveis mecanismos relacionados com os polifenóis, através de estudos observacionais, no que se refere à pressão sanguínea, função endotelial e glucose (1).

A disbiose intestinal foi associada ao desenvolvimento de uma série de DNTs, como doenças cardiovasculares, obesidade e doenças neurodegenerativas. Contudo, o consumo de

³ BDNF é uma proteína responsável pela sobrevivência, crescimento e diferenciação de novos neurónios e sinapses.

compostos polifenólicos tem um papel fundamental no tratamento desta mesma condição patológica (1).

A conversão de daidzeína em equol, após ingestão de isoflavonas, através da microbiota intestinal apresenta benefícios na saúde humana. Constatou-se que existem metabotipos produtores de equol assim como metabotipos não produtores de equol. Estes metabotipos apresentam diferentes distribuições entre indivíduos, sendo que apenas o produtor de equol terá benefícios no que se refere a riscos cardiometabólicos (1).

Florizina é um composto de dihidrocalcona presente nas maçãs, que é metabolizado no intestino delgado e posteriormente transportado pelos transportadores de sódio-glucose (SGLTs). Como tal, florizina é um potente inibidor de SGLT a nível intestinal (SGLT-1) e a nível renal (SGLT-2), o que é benéfico na DM (1).

Existem alguns fármacos cuja composição qualitativa inclui polifenóis, tais como Daflon, à base de bioflavonóides, nomeadamente composto por uma fração flavonóica purificada micronizada, contendo 90% de diosmina e 10% de flavonoides sob a forma de hesperidina. Este terá como indicações terapêuticas o tratamento dos sintomas e sinais relacionados com a insuficiência venosa (pernas pesadas, dor, cansaço, edema), e ainda o tratamento sintomático da crise hemorroidária (19).

Já o Valdispert é um medicamento à base de extrato seco de *Valeriana officinalis L. s.l.*, raíz, indicado para o alívio da tensão nervosa ligeira e da dificuldade em adormecer (20).

CAPÍTULO V - COVID-19

5.1. Epidemiologia

O coronavírus levou à pandemia COVID-19, porém esta não é a primeira vez que o coronavírus causa uma doença infecciosa a nível global. Em particular, a família Coronaviridae levou à SARS-CoV em 2003, e à MERS-CoV em 2012 (Figura 12) (3) (6).

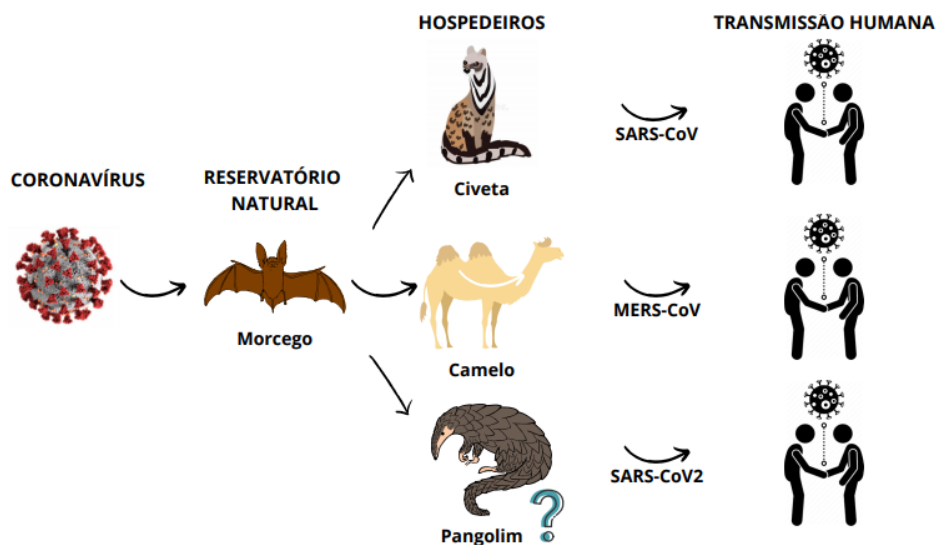


Figura 12-Cadeia de transmissão do coronavírus (3).

O primeiro diagnóstico tomou parte quando foi isolado fluido broncoalveolar (BALF) de 3 doentes COVID-19 no Hospital Wuhan Jinvintan a 30 de dezembro de 2019 (3).

No dia 11 de fevereiro 2020, a OMS nomeou o novo coronavírus de COVID-19. No início de agosto de 2020, haviam mais de 20 milhões de casos confirmados mundialmente e mais de 728.000 mortes com essa causa (6).

Até 19 de abril de 2021, a NIH (*National Institute of Health*) reportou globalmente mais de 141 milhões de casos COVID-19 causados pela infecção SARS-CoV-2, e mais de 3 milhões de mortes (21).

Todos os indivíduos de todas as faixas etárias encontram-se em risco de infecção e severidade. Porém, a maior probabilidade de severidade da doença ocorre nos indivíduos com mais de 60 anos, indivíduos que vivem em lares e aqueles que possuem doenças crônicas (21).

A percentagem de doentes que faleceram foi 12 vezes superior (19.5% VS 1.6%) e a percentagem de doentes hospitalizados foi 6 vezes superior (45.4% VS 7.6%) em doentes com condições patológicas do que a daqueles sem essas condições. A taxa de mortalidade é mais alta em indivíduos com mais de 70 anos, independentemente da presença de doenças crónicas. De entre os indivíduos com condições de saúde, 32% possuíam doenças CV, 30 % DM e 18% doenças pulmonares crónicas (21).

Todavia, existem outras condições que levam a um risco acrescido, de cancro, doenças renais, obesidade, anemia falciforme e outras condições imunossupressoras. Doentes transplantados e grávidas também se encontram em risco (21).

Dados emergentes provenientes dos EUA sugerem que as minorias raciais e étnicas experienciam uma taxa de incidência COVID-19 superior, e subsequente hospitalização e morte. Por conseguinte, diversos fatores que poderão contribuir para o aumento da severidade da COVID-19 nestas populações podem incluir desigualdade económica, zona de residência e falta de acesso aos cuidados de saúde primários e secundários (21).

Em suma, poder-se-á concluir que desigualdades estruturais na sociedade contribuem para disparidades, no que concerne à saúde pública para minorias raciais, étnicas e com comorbilidades, em que o risco de desenvolver COVID-19 com severidade é ainda maior (21).

5.2. Estrutura Viral

A SARS-CoV-2 faz parte do género β -coronavírus. Possui uma cadeia simples de sentido positivo de RNA. Este vírus pode causar patologias do foro respiratório, entérico, hepático e neurológico. Encontra-se genotipicamente e serologicamente dividido em quatro subfamílias: α , β , γ e δ . A infeção no Homem é causada pela α e β . A SARS-CoV e MERS-CoV são ambas do género β (2).

A análise filogenética de todo o espectro genómico evidencia que a SARS-CoV-2 partilha 79,5% e 50% de identidade sequencial com SARS-CoV e MERS-CoV, respetivamente. Contudo, apresenta 94.6% de identidade sequencial entre os sete domínios de replicação conservados no *open reading frame* (ORF1ab) da SARS-CoV-2 e SARS-CoV, e menos de 90% de identidade sequencial entre os ORF1ab de SARS-CoV-2 e outros β -CoVs, o que levará a crer que a SARS-CoV-2 pertence à linhagem B (Sarbecovírus) dos β -CoVs (2).

O virião da SARS-CoV-2 possui um genoma com uma dimensão de 29.9 kb, um nucleocapsídeo composto por RNA genómico e uma proteína fosforilada de nucleocapsídeo (N) (Figura 13). O nucleocapsídeo encontra-se no interior da camada fosfolipídica e coberto por dois tipos diferentes de proteínas *spike*: glicoproteína *spike* (S), a qual existe em todos os CoVs, e a hemaglutinina esterase (HE), a qual apenas existe em alguns CoVs (3).

A proteína da membrana (M) e a proteína do envelope (E) estão localizadas entre as proteínas S no envelope viral (3).

A proteína S é uma glicoproteína de membrana de grandes dimensões que pertence à classe de glicoproteínas de fusão viral classe I. A subunidade S1 periférica (S1) pode ligar-se independentemente a recetores celulares, enquanto que o terminal carboxi (S2) está contido no envelope viral, e é necessário para mediar a fusão das membranas virais e celulares. No coronavírus, a proteína S é a única proteína membranar viral responsável pela penetração celular. Esta define o tropismo viral, através dos respetivos recetores específicos e da atividade da membrana de fusão (22).

O genoma do SARS-CoV-2 tem um terminal de sequências 5' e 3' (265 nt no terminal 5' e 229 nt no terminal 3'), o que é típico de β -CoVs (Figura 14) (3).

Os genes expectáveis S, ORF3a, E, M e N do SARS-CoV-2 têm 3822, 828, 228, 669, e 1260 nt de comprimento, respetivamente. À semelhança do SARS-CoV, o SARS-CoV-2 transporta o gene ORF8 (366 nt) localizado entre os genes M e N de ORF (3).

O diâmetro da partícula viral é de 60 a 100 nm e apresenta uma forma redonda a oval (3).

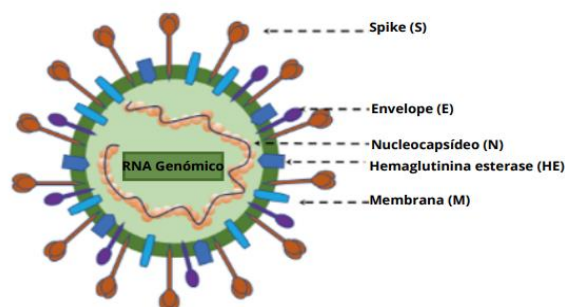


Figura 13-Partícula β -coronavírus. (3)



Figura 14-Genoma do vírus SARS-CoV-2. (3)

Na região terminal 5' do genoma SARS-CoV-2, ORF1a e ORF1b codificam para poliproteínas que são consequentemente processadas por clivagem proteolítica em proteínas não estruturais como RdRp, PLpro e 3CLpro. Estas proteases estão envolvidas na replicação e transcrição da SARS-CoV-2 (3).

ORF localizado na região terminal 3' do genoma viral codifica para proteínas estruturais como a S, E, M e N. As proteínas virais superficiais, S, E e M encontram-se embebidas na bicamada fosfolipídica, enquanto a proteína do nucleocapsídeo reveste o RNA viral de cadeia simples de sentido positivo. O SARS-CoV-2 utiliza a proteína S glicosilada extensivamente, de modo a projetar da superfície viral para se ligar à ACE2, e desta forma, mediar a entrada na célula hospedeira (3).

Após a ligação no recetor da célula hospedeira, as proteases do hospedeira como a protease de serina TMPRSS2 cliva a proteína viral S com o intuito de libertar o péptido de fusão *spike* (22).

5.3. Propriedades Físico-químicas

A maioria do conhecimento atual sobre as propriedades físico-químicas de CoVs provém do conhecimento prévio do SARS-CoV e do MERS-CoV (2).

SARS-CoV-2 poderá ser inativado por radiação UV ou calor a 56 °C durante 30 minutos e também apresenta sensibilidade à maioria dos desinfetantes como éter dietílico, 75% etanol, cloro, ácido peracético e clorofórmio (2).

Foi reportado que o SARS-CoV-2 apresenta maior estabilidade em plástico e aço inoxidável em comparação com cobre e papel. Foi detetado vírus viável por mais de 72 horas após a sua aplicação direta nestas mesmas superfícies. Em papel, o tempo de semi-vida do SARS-CoV-2 foi mais longo do que SARS-CoV e a viabilidade máxima em ambos os vírus ocorre no aço inoxidável e no plástico (3).

ACE2 é um recetor funcional sequestrado pela SARS-CoV-2 para entrar na célula, similar à SARS-CoV. ACE2 é uma proteína de membrana tipo I, expressa nos pulmões, coração, rins e intestino maioritariamente associado a patologias cardiovasculares (2).

A nível estrutural, ACE2 é composta por um domínio N-terminal (PD) e por um domínio collectrina-like (CLD), que possui no terminal uma hélice singular transmembranar e um segmento intracelular de 40 resíduos. Em adição à clivagem de angiotensina I para produzir

angiotensina, ACE2 fornece um sítio de ligação direto à proteína S de CoVs. A proteína S existe na conformação de pré-fusão metastável, que sofrerá um rearranjo estrutural para fundir a membrana viral com a membrana da célula hospede. Este processo é provocado pela subunidade S1 e pelo recetor de ligação da célula hospede, o qual destabiliza a proteína S trimérica, resultando na eliminação da subunidade S1 e na transição da subunidade S2 para uma conformação pós-fusão altamente estável (2).

Evidências biofísicas e estruturais sugerem que a proteína S do SARS-CoV-2 se liga a ACE2 com um *fold* 10-20 superior ao do SARS-CoV. Outra evidência estrutural sugere que o complexo ACE2-B0AT1 consegue ligar-se a 2 proteínas S simultaneamente (3).

5.4. Fisiopatologia e Manifestações Clínicas

O COVID-19 encontra-se classificado consoante a sua origem, sendo que é classificado como tipo A quando proveniente dos EUA e Austrália; tipo B quando proveniente da China, Ásia Este; e tipo C quando proveniente da Europa. Conforme a classificação, os sintomas clínicos diferem (3).

O período médio de incubação e número de reprodução básico (R_0)⁴ (Equação 1) foram estimados como 5.2 dias e 2.2 dias, respetivamente (3).

$$R_0 = \beta\tau$$

R_0 = Número de reprodução básica

β = Infeção produzindo contágios por unidade de tempo

τ = Período infeccioso médio

(1) **Equação 1-** Período médio de incubação e número de reprodução básico (R_0).

As anormalidades observadas nas radiografias do tórax variam entre si, porém a opacidade multifocal bilateral é a mais comum. Na tomografia computacional do peito há várias nuances, todavia a mais comum é opacidade em vidro fosco periférica bilateral. É de

⁴ O Número Básico de Reprodução ou R_0 é definido como o número médio de infeções secundárias que podem ser causadas por um doente, numa população completamente suscetível, durante um período infeccioso. R_0 é um número adimensional e um indicador da contagiosidade de um agente patogénico.

notar que a imagiologia deve encontrar-se normal no início da infecção e também poderá apresentar anormalidades na ausência de sintomas (21).

É de referir que foi aferido que os sintomas ENT (*ear nose throat*) são predominantemente observados entre os 18 e 30 anos e no sexo feminino (3).

Os sintomas ENT da COVID com maior frequência são tosse (43,8%) e garganta dorida e anosmia (35,4%). Os sintomas iniciais mais comuns são febre (98%), tosse (76%), mialgia e fadiga (44%). Os sintomas menos comuns são produção de expectoração (28%), cefaleias (8%), hemoptise (5%) e diarreia (3%). Mais de 50% dos doentes apresentam dispneia (3).

Análises hematológicas indicam uma contagem de glóbulos brancos normal ou reduzida (25%) e linfopenia (65%). Aproximadamente 98% dos doentes apresentam complicações bilaterais no tórax através da TC (3).

Na China, de entre 72.314 indivíduos com COVID-19, 81% dos casos foram reportados como leves (sem pneumonia ou com leve pneumonia), 14% como severos (dispneia, frequência respiratória ≥ 30 respirações/min, saturação de O₂ $\leq 93\%$, uma taxa de pressão parcial de oxigénio arterial por fração de oxigénio inspirado [PaO₂/FiO₂] < 300 mm Hg, infiltrados pulmonares > 50% dentro de 24 a 48 horas) e 5% como críticos (falha respiratória, choque séptico e/ou disfunção multiorgânica) (21).

Apesar da COVID-19 ser primariamente uma doença pulmonar, informação emergente sugere que esta leva a complicações cardíacas, dermatológicas, hematológicas, hepáticas, neurológicas, renais, entre outras. Eventos tromboembólicos também ocorrem em doentes COVID-19 com elevado risco. As sequelas, a longo termo, de doentes COVID-19 são atualmente desconhecidas (21).

5.5. Fatores de Risco

Muitos fatores de risco foram identificados na progressão da COVID-19, como idade avançada, género masculino, comorbilidades e imunodeficiências (Figura 15) (2).

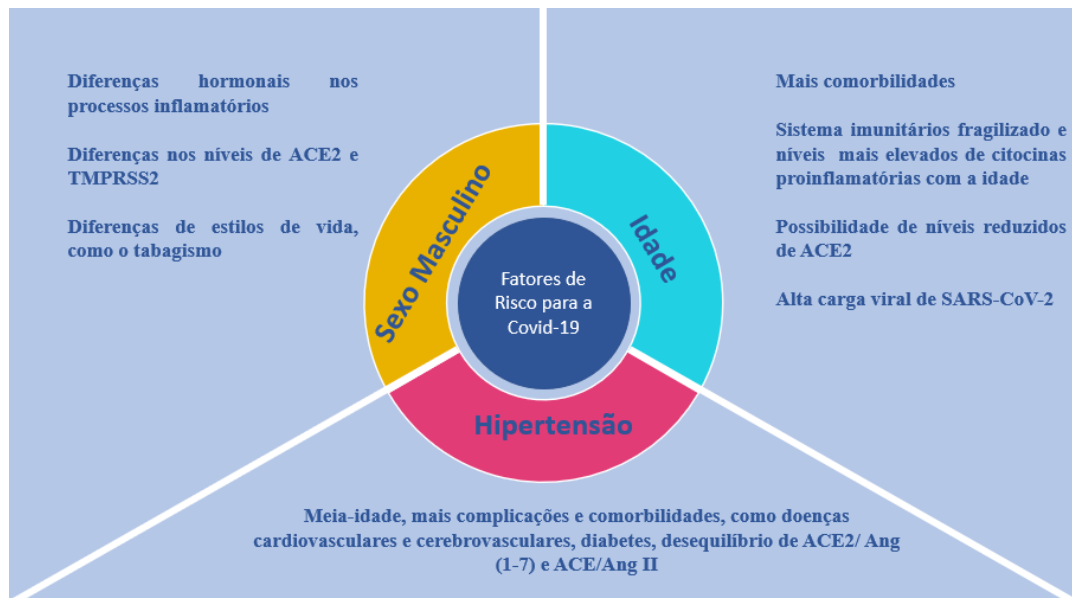


Figura 15-Fatores de risco na COVID-19 severa (2).

No que se refere aos doentes hospitalizados, a percentagem de doentes severos e críticos variou entre os 19.8% e os 49% na coorte de adultos, enquanto que na coorte pediátrica foi de 2.2%. Nos EUA, num estudo singular realizado, 83.8% dos doentes que receberam ventilação mecânica invasiva foram do sexo masculino e os doentes que realizaram o desmame com sucesso deste mesmo tratamento eram maioritariamente mais novos. Através de 79.394 casos na China, concluiu-se que os doentes com menos de 30 anos e com mais de 59 tinham probabilidade de morrer 0.6% e 5.1% maiores que doentes com idades compreendidas entre os 30 e os 59, respetivamente (2).

Curiosamente, a avaliação da idade biológica é condicionada pela idade cronológica e nove biomarcadores (albumina, fosfatase alcalina, creatinina, PCR, glucose, contagem de linfócitos, volume celular médio (MCV) e a distribuição de células sanguíneas vermelhas e brancas) (2).

A idade é um fator de risco, uma vez que se encontra associada a mais comorbilidades, isto é, um sistema imunitário mais fragilizado e maiores concentrações de citocinas pró-inflamatórias (2).

ACE2, por se encontrar reduzido, poderá oferecer alguma proteção contra lesões pulmonares causadas por infeções virais em doentes mais velhos, porém poderá também contribuir para uma maior severidade (2).

A discrepância de severidade entre doentes do sexo feminino e masculino pode dever-se às hormonas sexuais envolvidas nos processos inflamatórios, a expressão de ACE2 e TMPRSS2 e ainda a diferenças de estilo de vida (2).

5.5.1. Hipertensão Arterial

Hipertensão arterial foi mais frequentemente observada em doentes severos em relação a não-severos. A prevalência desta patologia é superior em doentes internados do que em não internados (58,3% VS 21,6%). Porém, é de notar que a prevalência de hipertensão arterial é elevada na população mais idosa e como tal este fator de confundimento deve ser excluído (2).

Num estudo retrospectivo com 803 doentes COVID-19 hospitalizados com HTA, PS média-alta e PD elevada foram independentemente associadas a mortalidade intra-hospitalar, internamento nos Cuidados Intensivos e ataque agudo do miocárdio, sugerindo que a pressão sanguínea baixa e estável é um preditivo de um bom prognóstico para estes doentes (2).

O desequilíbrio entre as duas vias principais do sistema renina-angiotensina-aldosterona, isto é, enzima conversora de angiotensina (ACE) 2 / angiotensina regulada negativamente e ACE / Angiotensina II regulada positivamente, pode contribuir para o aumento do risco de gravidade dos doentes COVID-19 com comorbidades e idade avançada, como ilustrado na Figura 11 (2).

Um baixo controlo da PA é um risco elevado para morte cardiovascular e torna-se um fator de confundimento para as mortes por COVID-19. É de acrescentar que o uso de ARA's e IECA's para o tratamento de doentes COVID-19 com HTA foi associado a uma baixa mortalidade quando comparado com doentes sem esta respetiva terapêutica de primeira linha (2).

Outro estudo revelou que doentes prescritos com ARA's e IECA's pelo menos 6 meses antes da infeção por SARS-CoV-2 não estavam associados a maior suscetibilidade nem mortalidade por COVID-19. O mesmo aplicou-se a outras classes de fármacos anti-hipertensores (2).

5.5.2. Diabetes

Diabetes é uma comorbilidade comum nos doentes COVID-19 e é considerado um fator de risco de severidade e fatalidade em doentes COVID-19. Uma meta-análise mostrou que doentes diabéticos têm maior risco de doença severa, de internamento e até mortalidade (2).

Os doentes diabéticos infetados com SARS-CoV-2 apresentam um maior risco de mortalidade, quando há um pobre controlo de HbA1c antes da admissão hospitalar. Um outro estudo demonstrou que os doentes com hiperglicemia possuem um maior risco de internamento nos cuidados intensivos, de ventilação mecânica e morte. Além disso, indivíduos com diabetes com início recente, durante o internamento, apresentam maior risco de mortalidade em comparação com aqueles com hiperglicemia ou diabetes (2).

A expressão de ACE2 encontra-se aumentada na DM tipo II, nos pulmões e noutros tecidos. Esta regulação positiva está associada a inflamação crónica, ativação de células endoteliais e resistência à insulina, o que agrava a resposta inflamatória e leva a disfunção da barreira alveolar-capilar (Figura 16). Em suma, o curso e prognóstico clínico da COVID-19 em doentes diabéticos são significativamente mais severos (2).

5.5.3. Obesidade

Num estudo de coorte constituído por 433.995 doentes COVID-19, os doentes obesos encontravam-se em maior risco de hospitalização e severidade (Figura 16). Tal não foi observado em doentes com idades compreendidas entre os 65 e 79 anos, mas foi notável entre a população mais jovem, com menos de 50 anos (2).

Num outro estudo, a severidade e duração de internamento em doentes COVID-19 obesos encontravam-se diretamente relacionados com o IMC. Doentes com $IMC \geq 35 \text{ kg/m}^2$ possuem maior risco de admissão nos cuidados intensivos em doentes com menos de 60 anos (2).

Doentes obesos do sexo masculino encontram-se em maior risco de severidade. É ainda de acrescentar que um $IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$ foi considerado um fator de risco independente associado a mortalidade mais pronunciada em doentes com menos de 50 anos (2).

Curiosamente, doentes COVID-19 obesos com doenças metabólicas associadas a fígado gordo estão em maior risco de severidade após ajustamento da idade, sexo, hábitos tabágicos, diabetes, hipertensão e dislipidemia (2).

A elastância da parede torácica e a complacência ficam reduzidas em situação de obesidade, levando a uma função pulmonar danificada, a níveis mais elevados de estado pró-inflamatório e níveis de IL-6 e um risco mais elevado de trombose. Além disso, a ativação das células endoteliais e a resistência à insulina também podem contribuir para a disfunção da barreira sanguínea de gases (2).

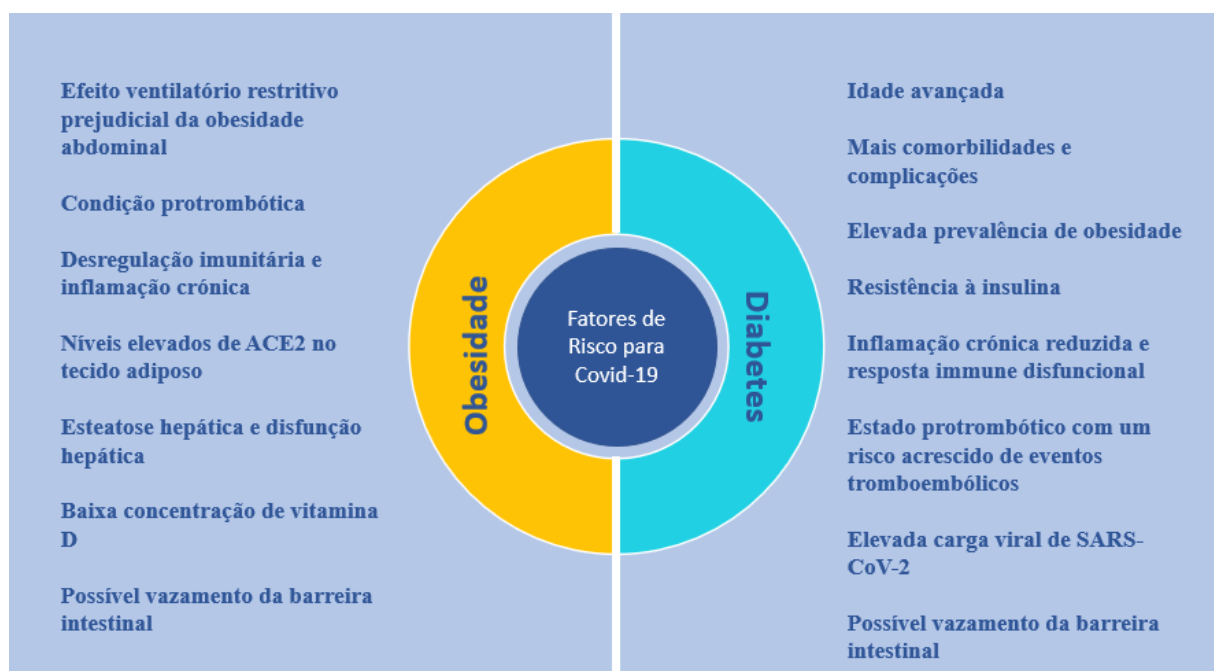


Figura 16-Mecanismos da diabetes e obesidade na COVID-19 severa (2).

Os recetores ACE2 são expressos em excesso nos adipócitos de indivíduos obesos. O envolvimento de ACE2 nos lipofibroblastos pulmonares e noutras células adipócitos-like durante a infeção por SARS-CoV-2 permanece desconhecida. Porém, a expressão de moléculas relacionadas com SARS-CoV-2, como o transportador de monocarboxilato 4 (MCT4), integrina α , fator nuclear das células T ativadas 1 (NFATC1) nas amostras brônquicas alveolares e basigina (BSG) (CD147), peptidil peptidil-prolil cis / trans isomerase a (PPIA, ciclofilina A), galectina - 3 (LGALS3) e nucleótido - domínio de ligação oligomerização (NOD), é mais prevalente em em amostras sanguíneas de doentes obesos do que de não-obesos (2).

Adicionalmente, MCT4, ITGA3, LGALS3, e CD44 encontram-se correlacionados positivamente com o IMC no BAL, no qual BSG, PPIA, S100A9, CD44, LGALS3 e SLC16A3 se correlacionam positivamente com o IMC no sangue (2).

Deste modo, os níveis de ACE2 solúvel em plasma foram associados ao IMC e à leptina, um biomarcador para obesidade, HbA1C e ainda à avaliação do modelo homeostático da resistência à insulina (HOMA-IR), o biomarcador para a resistência à insulina e hiperglicemia, sugerindo um possível papel da resistência à insulina na severidade da COVID-19 (2).

5.5.4. Asma e Alergias

Estudos recentes acerca da associação entre severidade da COVID-19 e patologias alérgicas e asma são controversos. Um estudo com doentes adultos e pediátricos em Wuhan e uma vasta série de casos da China mostraram baixa prevalência de asma ou historial alérgico em doentes COVID-19, mostrando que tais características não são fatores predisponentes para tratamento de ventilação mecânica (2). Apenas 1.8% dos doentes COVID-19 nos cuidados intensivos eram asmáticos, como reportado numa coorte russa (2).

Todavia, outros estudos epidemiológicos indicam que a asma e comorbilidades alérgicas se encontram positivamente correlacionados com severidade na COVID-19. Como caso ilustrativo, uma coorte prospetiva baseada em 492.768 participantes nos Reino Unido indicou que doentes com asma possuíam um risco superior de progressão da doença para severa em comparação com indivíduos saudáveis. A asma não controlada é um fator de risco para uma maior severidade de uma exacerbação induzida pelo vírus, e como tal, casos de asma controlada deverão ter risco menos severo de COVID-19 (2).

A inconsistência de dados entre asma e severidade na COVID-19 pode dever-se à diferença de escalas usadas em casos de séries, critérios de hospitalização de doentes COVID-19, disparidades raciais, idade, gravidade da asma e a condição de controlo da asma (2).

Curiosamente, os indivíduos sem asma alérgica têm maior risco de severidade na COVID-19 que os indivíduos com asma alérgica. As células epiteliais nasais e das vias aéreas dos doentes com alergias respiratórias são caracterizadas por uma expressão reduzida de ACE2 e regulação positiva de TMPRSS2, duas moléculas essenciais para a entrada de SARS-CoV-2 na célula. Tal resulta num risco de infeção inferior, porém num risco de severidade superior (2).

Uma visão mais aprofundada acerca dos polifenóis e endotipos de asma ajudaria a melhorar a fisiopatologia da asma na COVID-19 (2).

5.5.5. DPOC

Um estudo recente reportou que a DPOC não é considerada um fator de predisposição para a SARS-CoV-2, porém, uma vez que o doente tem COVID-19, este tem um risco acrescido de hospitalização, internamento nos cuidados intensivos e tratamento de ventilação mecânica. Num estudo com 476 doentes COVID-19, a prevalência de DPOC apresenta algumas nuances conforme a severidade, sendo mais baixa no grupo moderado (2.3%), intermédia no grupo severo (5.6%) e mais alta no grupo de doentes críticos (15.7%). À semelhança, numa coorte com 289 doentes COVID-19 hospitalizados, 6.1% dos doentes não sobreviventes observou-se como comorbilidade DPOC, enquanto que a prevalência de DPOC em doentes não severos é de 0.6% (2).

Porém, existem diferenças significativas na prevalência de DPOC conforme a localização: Wuhan (8.3%), Espanha (38%) e Seattle (33%) (2).

A função pulmonar restrita é um fator importante de confundimento e diversos mecanismos moleculares têm sido propostos (Figura 17). A expressão maior de ACE2 nas vias aéreas encontra-se correlacionado negativamente com volume expiratório forçado em 1 segundo, FEV1 (2).

Outras moléculas relacionadas com a infeção SARS-CoV-2 foram detetadas em doentes com DPOC, como SLC2A1 (GLUT1) em células epiteliais brônquicas humanas, SLC7A5 (CD98), ITGA3 e ITGA6 em biópsias brônquicas (2).

Consistentemente, a expressão de ACE2 nas vias respiratórias inferiores é superior em doentes com DPOC e reduzida em doentes asmáticos. Além disto, comparando com os asmáticos, os doentes com DPOC, foram caracterizados pela redução de células T CD4+ e CD8+, células B e elevação de citocinas inclusive TNF- α , IL-10, IL-8 e IL-6 (2).



Figura 17-Possíveis mecanismos que contribuem para o aumento da severidade por DPOC, ILD e PE (2)

O risco aumentado de severidade e de um *outcome* adverso em doentes COVID-19 com DPOC poderá dever-se a uma reserva pulmonar reduzida, a um aumento da expressão de ACE2 no epitélio brônquico, inflamação pulmonar crónica, hipoxemia crónica, destruição do parênquima pulmonar, limite do fluxo expiratório, exacerbação aguda por infeção viral, hipersecreção mucosa e hipertensão pulmonar (2).

Doentes com ILD são caracterizados por inflamação crónica, reserva pulmonar diminuída, disfunção de ventilação restrita, hipoxemia crónica que pode causar hipertensão pulmonar e insuficiência cardíaca direita, exacerbação de ILD por infeção viral, dificuldades no acesso à medicação e medicação descontinuada e redução da expressão de ACE2 em doentes com fibrose pulmonar idiopática, IPF (ACE2 é protetora de ALI) (2).

Estes fatores podem contribuir para um risco maior de desfechos severos em doentes COVID-19 com ILD. PE é uma complicação fatal em doentes hospitalizados, sendo que esta patologia se baseia em diferentes mecanismos: lesão microvascular difusa mediada por citocinas, estado hipercoagulável, trombocitose reativa, imobilização relacionada com hospitalização, idade avançada e insuficiência cardíaca direita (2).

5.5.6. Doenças Crónicas Hepáticas

Cerca de 2 a 11% dos doentes com COVID-19 já possuíam doença hepática crónica (CLD) e 14 a 53% dos doentes com COVID-19 desenvolveram posteriormente disfunção hepática (2).

Doentes com CLD encontram-se em maior risco de infeção devido à alteração do sistema imunitário e são mais suscetíveis a descompensação ou desenvolvimento de falência aguda ou crónica hepática devido a infeções virais, bacterianas ou fúngicas. Os doentes com patologias hepáticas autoimunes ou pós-transplantados encontram-se em maior risco (2).

5.5.7. Doenças Crónicas Renais

Até à data, existem estudos limitados acerca da associação preexistente entre doença crónica renal (CKD) e severidade na COVID-19. Tal poderá se dever à falta de dados dos doentes acerca da função renal (2).

Em contrapartida, um estudo reportou que os doentes COVID-19 que já tinham CKD encontram-se em maior risco de morte do que aqueles sem, e torna-se mais prominente quando há severidade de CKD. Em 10.482 doentes COVID-19 em estadio final da CKD apresentaram um maior risco de mortalidade intra-hospitalar do que doentes sem COVID-19 (31,7 % VS 25,4%) (2).

Doentes com CKD possuem maior prevalência de comorbilidades, como HTA, DCV, DM, o que pode contribuir para piores *outcomes* (2).

5.5.8. Cancro e Quimioterapia

Doentes com cancro e alterações malignas hematológicas encontram-se mais vulneráveis à SARS-CoV-2 devido ao sistema imunitário débil. Estes doentes encontram-se em maior risco de severidade em relação aos que não possuem nenhuma comorbilidade (2).

Num estudo de coorte envolvendo 585 doentes COVID-19, 117 possuíam cancro ativo. Os resultados correspondentes demonstram que esta patologia não está associada a um risco aumentado de internamento nos cuidados intensivos, intubação ou morte (2).

Os doentes cancerígenos têm como fatores de risco de severidade para a COVID-19: idade avançada, IL-6 elevada, procalcitonina (PCT), D-dímero, linfócitos reduzidos, estadió do tumor, TNF- α , peptídeo natriurético N-terminal pró-tipo B, células T CD4+ e rácio albumina-globulina reduzidas (2).

Outro estudo identificou a idade superior a 65 anos e o tratamento com inibidores de *checkpoint* imunológico (ICIs) como fatores preditivos de hospitalização e severidade na COVID-19, independentemente do tratamento de quimioterapia e grandes cirurgias (2).

Todavia, de acordo com Luo et al, a terapia de bloqueio de morte programada 1 (PD-1) não está associada com a severidade de COVID-19 no cancro do pulmão (2).

Curiosamente, um diagnóstico precoce de cancro, mais de 24 meses antes da infeção foi associado a uma severidade acrescida (2).

As conclusões incongruentes do impacto do cancro na severidade da COVID-19 devem-se a fatores de confundimento como comorbilidades e idade avançada (2).

Em suma, o cancro poderá estar associado a um maior risco de prevalência e severidade da COVID-19, sendo que fatores determinantes são o tipo de tumor, duração e terapêutica (2).

5.5.9. Gravidez

Alterações fisiológicas no sistema imunitário e respiratório podem tornar as mulheres grávidas mais suscetíveis à infeção COVID-19. Uma vez que a placenta se encontra em desenvolvimento no primeiro trimestre, a expressão precoce de ACE2 poderá tornar o primeiro trimestre o mais suscetível à infeção por SARS-CoV-2. Grávidas com COVID-19 possuem um maior risco de internamento nos cuidados intensivos que mulheres não-grávidas (1,5% VS 0,9%) (2).

O internamento nos cuidados intensivos, na Suécia, foi maior em mulheres grávidas e em pós-parto imediato com confirmação laboratorial de infeção por SARS-CoV-2, do que em mulheres não-grávidas da mesma faixa etária (2).

Em suma, dados recentes confirmam um maior risco de admissão nos cuidados intensivos em mulheres grávidas com COVID-19 (2).

5.5.10. Imunodeficiência

Estudos acerca da SARS- CoV e MERS- CoV sugerem que doentes com HIV frequentemente têm um risco reduzido de infecção pelo vírus e de desenvolvimento da doença. Tal deve-se à supressão da replicação viral do coronavírus através da terapia anti-retroviral. Porém, estes doentes têm um tempo de duração maior da doença, sendo que a razão é o sistema imunitário deprimido. Numa coorte em Espanha com 51 pessoas com HIV e COVID-19 que estavam a receber terapêutica anti-retroviral, 13 destas pessoas (25,5%) progrediram para casos severos (2).

A incidência de COVID-19 em doentes com HIV é mais baixa do que em indivíduos saudáveis, sendo que num estudo recente foi reportada uma incidência de 0,9% (53/5683). Destes 53, 6 (14%) eram casos severos, 4 (8%) requeriam cuidados intensivos e 2 (4%) faleceram (2).

A terapêutica anti-retroviral não foi associada a prognóstico de COVID-19 nem a severidade. Uma meta-análise que envolveu 25 estudos e 252 doentes HIV co-infetados com SARS-CoV-2 demonstrou que apenas 21,2% dos doentes em estadios críticos e severos (2).

Em suma, HIV não se encontra relacionado com o aumento da suscetibilidade de SARS-CoV-2, porém existem alguns fatores de risco quando ambas as patologias se combinam (2).

Os fatores de risco que levam a doença severa e mortalidade numa população geral também afetam doentes com erros inatos de imunidade (IEI), inclusive doentes jovens. Tal indicará que IEI poderá ser um fator de risco para a severidade. Um estudo recente demonstrou que existe uma forte associação entre baixa capacidade de síntese de IFN e severidade na COVID-19 (2).

As vias de ativação de NFkB nas células dendríticas plasmocitoides são essenciais para a produção de quantidades avultadas de IFN tipo I. Todos os doentes com mutações em NFkB1 ou NFkB2 necessitaram de hospitalização, sendo que se pode concluir que o IFN tipo I desenvolve um papel protetor contra a COVID-19 (2).

5.6. Complicações

5.6.1. Doença Renal Aguda (AKI)

A doença renal é frequentemente observada em doentes COVID-19 hospitalizados. Estudos recentes reportaram que AKI ocorre em 0,5 a 29% dos doentes hospitalizados COVID-19 (2).

Obtiveram-se 435 amostras de urina de entre 1835 doentes com AKI, sendo que a maioria apresentou proteinúria (84%) e hematúria (81%) (2).

Em Nova Iorque, 36,6% dos doentes desenvolveu AKI e, destes, 14,3% destes necessitaram de terapêutica renal de substituição (RRT). A maioria dos doentes com ventilação mecânica (86,9%) e intubados (23,2%) requerem RRT (2).

AKI é bastante comum em doentes COVID-19 críticos, sendo que cerca de 76% dos doentes que necessitam de cuidados intensivos apresentam AKI. Posto isto, tal é um marcador de severidade da doença (2).

Após o ajuste de valores demográficos, laboratoriais e de comorbilidades, o risco de mortalidade por COVID-19 é superior em doentes com AKI que se encontram nos cuidados intensivos (2).

Similarmente, o risco de mortalidade encontra-se relacionado com o aumento da *baseline* de BUN, de SCr e com o pico de creatina sérica > 133 $\mu\text{mol/L}$. A progressão de AKI está por sua vez relacionada com o aumento de risco de morte, sendo a razão de risco (HR) é igual a 3.51, 6.24, e 9.81 para o estadio AKI 1, 2 e 3, respetivamente (2).

O recetor solúvel do ativador do plasminogénio da uroquinase (SuPAR) foi identificado como um fator de risco imunológico para AKI. Num estudo observacional em doentes multinacionais hospitalizados, a incidência de AKI aumentou com os valores de suPAR, de 6% em doentes com suPAR < 4.60 ng/mL para 45,8% em doentes com valores > 6.86 ng/mL. Nenhum dos doentes com suPAR < 4.60 ng/ml necessitou de diálise. Posto isto, suPAR poderá ser usado como um potente biomarcador para a severidade de AKI e COVID-19 (2).

5.6.2. Distúrbios de coagulação

A associação COVID-19 e coagulopatias é caracterizada por níveis elevados de D-dímeros, baixa contagem de plaquetas, prolongação do tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativado (APTT), elevados níveis de fibrinogénio, factor VIII e fator Von Willebrand (2).

Quando os níveis de APTT são superiores 37 segundos, há um risco acrescido de complicações cardiovasculares, o que é considerado um indicador de severidade e mortalidade (2).

Hemorragias associadas a terapêuticas profiláticas ou terapêuticas com anticoagulantes são mais comuns em doentes críticos do que não críticos (7,6% VS 3,1%) e hemorragias *major* virtualmente só surgiram em doentes críticos (2).

Posto isto, as hemorragias são um fator determinante para a severidade. Curiosamente, doentes com distúrbios de coagulação congénita possuem menor prevalência, sintomas mais leves e melhor prognóstico quando comparado com a população geral, numa coorte iraniana (2).

5.7. Patogénese

SARS-CoV-2 é transmitido predominantemente por contacto de gotículas respiratórias e potencialmente por via oro-fecal. É ainda transmitida por superfícies, sendo que a deposição de aerossóis com vírus poderá contaminar objetos (fómites) (3) (23).

A replicação viral primária ocorre no epitélio da mucosa do trato respiratório superior, dando continuidade à multiplicação viral no trato respiratório inferior e mucosa gastrointestinal, levando a uma virémia (3).

O SARS-CoV-2 liga-se ao recetor ACE2, através da proteína *spike*. Curiosamente, SARS-CoV-2 apresenta uma afinidade maior para ACE2 do que SARS-CoV-1 (24).

ACE2 é amplamente expresso na mucosa nasal, brônquios, pulmões, coração, esófago, rins, estômago, bexiga e íleo, sendo que estes órgãos são suscetíveis à SARS-CoV-2 (3).

A patogénese encontra-se descrita na Figura 18 (3).

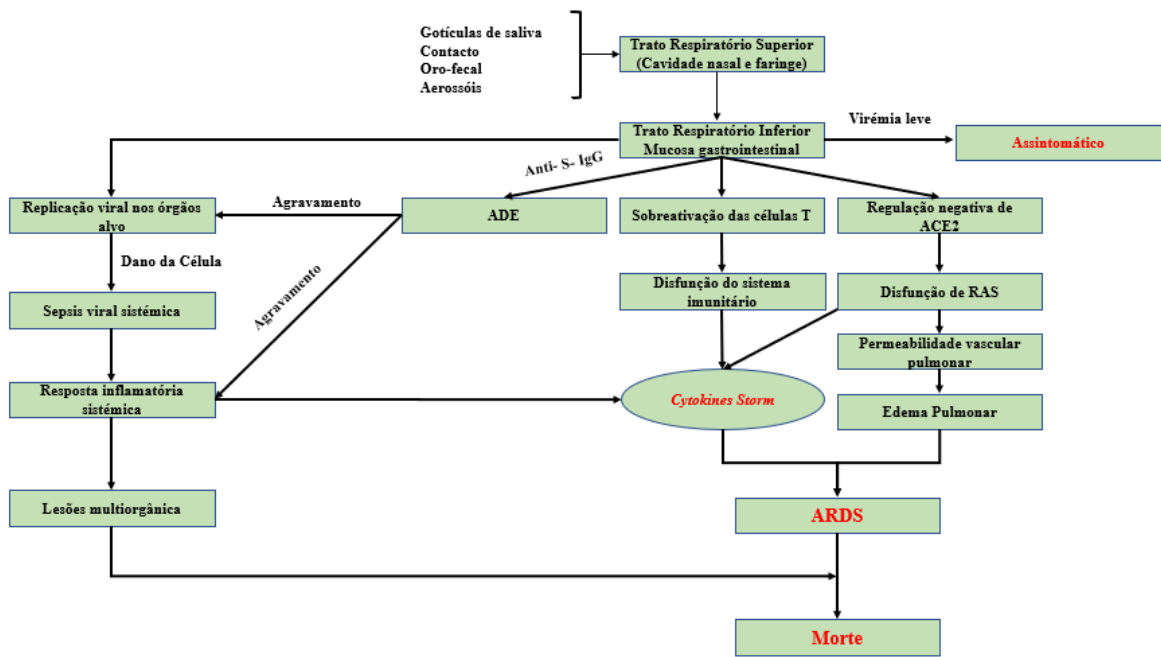


Figura 18-Patogénese da SARS-CoV-2 (3).

A Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (ARDS) é uma patologia pulmonar que representa risco de vida, pois inibe uma correta oxigenação. Em estudos prévios, constatou-se que as citocinas inflamatórias se encontram intimamente relacionadas com a ocorrência de ARDS (3).

Diversos fatores levam a que ocorra uma inflamação agressiva causada pelo SARS-CoV-2, tais como a replicação viral rápida, danos celulares, regulação negativa e libertação de ACE2 induzida pelo vírus e ainda o realce dependente de anticorpos (ADE). O início da replicação viral rápida poderá causar morte celular epitelial e endotelial massiva e ainda derrame vascular, despoletando a produção exuberante de citocinas pro-inflamatórias e quimiocinas (3).

A inativação da angiotensina II pelo ACE2 pode explicar os seus efeitos protetores. A angiotensina II é capaz de ativar várias células do sistema imunológico, como macrófagos, induzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, TNF α , entre outras. Consequentemente, a angiotensina II tem sido associada ao desenvolvimento de lesões pulmonares inflamatórias (24).

A perda funcional de ACE2 pulmonar encontra-se relacionada com a lesão pulmonar aguda, uma vez que a regulação negativa e libertação de ACE2 podem levar à disfunção do

sistema renina-angiotensina (RAS), e por conseguinte, aumentar a inflamação e causar permeabilidade vascular (3).

Para a SARS-CoV, alguns doentes, particularmente aqueles que produzem anticorpos neutralizantes precocemente, experienciam inflamação persistente, ARDS, e até morte súbita, enquanto que a maioria dos doentes sobrevive às respostas inflamatórias e elimina o vírus. Tal também sucede na SARS-CoV-2, sendo que um mecanismo de ADE foi recentemente proposto. ADE trata-se de um fenómeno viral bem conhecido, o qual ocorre em múltiplas infeções virais, e poderá promover o aumento celular viral de complexos infecciosos de vírus e anticorpos, ocorrendo posteriormente a interação com Fc (FcR), Fc γ R ou outros recetores, levando assim ao aumento da infeção de células alvo. A interação de Fc γ R com o complexo de anticorpos neutralizantes de vírus anti-proteína S, (anti-S-IgG), facilita não só a resposta inflamatória como a replicação viral persistente nos pulmões (3).

As células T CD4+ e CD8+ periféricas encontram-se reduzidas em doentes severos e em hiperativação. Concentrações elevadas de células T pró-inflamatórias CD4 e células T com grânulos citotóxicos CD8 foram também determinadas, sugerindo respostas imunitárias antivirais e sobreexpressão de células T. Adicionalmente, diversos estudos reportaram que a linfopenia é uma característica comum na COVID-19, sendo também um fator de severidade e mortalidade (3).

Em indivíduos jovens, os níveis de ACE2 e ACE2+ encontram-se aumentados, apresentam uma maior capacidade regenerativa e uma forte resposta imunológica, o que leva a uma eficaz eliminação viral. Indivíduos com uma idade mais avançada possivelmente apresentam níveis mais baixos de ACE2, e têm algumas comorbidades, o que poderá afetar o sistema de angiotensina, ou prejudicar a resposta imunológica. As células ACE2 + e as células alveolares tipo 2 (AT2) vão além da capacidade reparadora, causando inflamação pulmonar, com elevado risco de ARDS devido a uma resposta inflamatória exacerbada (Figura 19) (24).

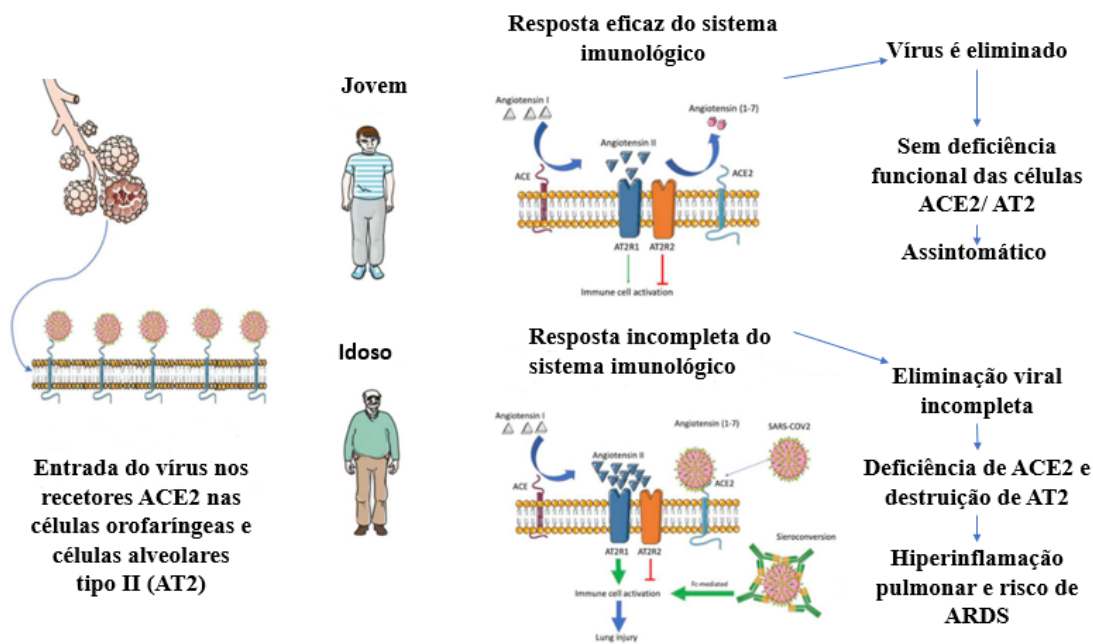


Figura 19-Possíveis mecanismos que ligam o déficit funcional da ACE2 a diferentes respostas ao SARS-CoV-2 em indivíduos jovens VS idosos e / ou com comorbilidades (25).

5.8. Objetivo da Terapêutica

A terapêutica contra a COVID-19 pode ser categorizada em dois grupos: fármacos cujo alvo é o vírus e fármacos que atuam nas células humanas ou no sistema imunitário (22).

Os alvos-chave do SARS-CoV-2 incluem 3 proteínas não-estruturais (3CLpro, PLpro e RdRp) e a proteína estrutural (Proteína S), a qual é responsável pela replicação, transcrição e reconhecimento de célula hospede (22).

Outro alvo terapêutico é o recetor ACE2 que possibilita a entrada do vírus SARS-CoV-2. Evidências científicas têm vindo a demonstrar que a expressão controlada de ACE2 pode ajudar na modulação dos sintomas (22).

A infeção por SARS-CoV efetua a regulação negativa dos recetores ACE2. Além do mais, ratos com ACE2 inativo ou em *knocked-out* desenvolvem lesões agudas pulmonares mais severas (22).

À semelhança, ensaios baseados em células evidenciaram que a entrada viral de SARS-CoV e SARS-CoV-2 pode ser bloqueada através de formas solúveis de ACE2, indicando que ACE2 recombinante atua sequestrando o recetor para a proteína S (22).

Os inibidores das proteases têm como função bloquear a disseminação viral de patologias como HIV-AIDS, MERS e SARS. Assim, pensa-se que também sejam bons candidatos para inibir o SARS-CoV-2. A replicação do coronavírus requer um processo proteolítico correto das poliproteínas replicase por proteases virais, levando à libertação de proteínas estruturais e não estruturais (22). As poliproteínas SARS-CoV-2 são processadas pela protease principal, 3CLpro (Mpro) e pela PLpro. Estas proteases estão envolvidas na replicação e transcrição de SARS-CoV-2, especialmente, 3CLpro, a qual desenrola um papel vital no processamento de poliproteínas e maturação viral. É de referir que 3CLpro é um dos melhores alvos terapêuticos de SARS-CoV-2 e estudos demonstraram que antivirais com alvo em 3CLpro providenciam terapêuticas de primeira linha contra infeções por coronavírus (22).

5.9. Terapêutica Farmacológica

Com base em evidências científicas, prevê-se que as terapias antivirais tenham maior efeito no início do curso da doença, e em contrapartida as terapias imunossupressoras / anti-inflamatórias provavelmente são mais benéficas nos estágios posteriores (25).

Até à data, nenhuma terapia provou ser benéfica em doentes ambulatoriais com COVID-19 leve a moderado sem alto risco de progressão da doença. Todavia, em doentes ambulatoriais com COVID-19 leve a moderado que apresentam alto risco de progressão da doença, as terapias baseadas em anticorpos anti-SARS-CoV-2 podem ter maior potencial de benefício clínico durante os estadios iniciais da infeção. Posto isto, é recomendada a administração de bamlanivimab mais etesevimab ou casirivimab mais imdevimab, disponíveis através de AUE (Tabela 2) (25).

Remdesivir, um agente antiviral, é atualmente o único fármaco aprovado pela FDA para o tratamento de COVID-19. É recomendado para uso em doentes hospitalizados que requerem oxigenação. Porém, devido à falta de dados científicos, não é recomendado rotineiramente para doentes que necessitam de ventilação mecânica (25).

Verificou-se que a dexametasona prolonga a sobrevivência dos doentes hospitalizados que recebem oxigénio, com melhoras mais significativas em doentes que requerem ventilação mecânica. Portanto, o uso de dexametasona é fortemente recomendado na situação clínica anteriormente referida (25).

A adição de tocilizumab a dexametasona mostrou um aumento da sobrevivência dos doentes que apresentavam uma descompensação respiratória rápida devido à COVID-19 (25).

A 26 de maio de 2021, a FDA emitiu uma Autorização de Uso Excepcional (AUE) para o uso do anticorpo monoclonal anti-SARS-CoV-2 sotrovimab para o tratamento de doentes não hospitalizados com grau leve a moderado COVID-19 com alto risco de progressão para COVID-19 grave (25).

Sotrovimab é um anticorpo monoclonal cujo alvo é um epítipo altamente conservado no domínio de ligação ao recetor (RBD) da proteína *spike* SARS-CoV-2. Este epítipo não se sobrepõe a locais de mutações identificadas entre as variantes SARS-CoV-2 de preocupação e interesse e, *in vitro*, o sotrovimab mantém a atividade neutralizante contra as variantes B.1.1.7 (Alfa), B.1.351 (Beta), P.1 (Gama), B.1.427 / 429 (Epsilon) e B.1.526 (Iota) (25).

CAPÍTULO VI - COVID-19 PREVENÇÃO E TERAPÊUTICA COM POLIFENÓIS

Inúmeras plantas têm vindo a ser investigadas devido às substâncias nutraceuticas que contêm, sendo que estas possuem atividade antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, pro-apoptótica, anti-proliferativa e capacidade de controlo hormonal (22).

Os polifenóis dietéticos são encontrados em alimentos à base de plantas, as quais possuem a capacidade de prevenir e retardar o desenvolvimento de diversas doenças (17).

Os nutraceuticos, cujo alvo terapêutico é o recetor ACE2, possuem elevado potencial terapêutico para diversas patologias virais, nomeadamente para a COVID-19. Assim, sabe-se que os polifenóis terão uma atividade antiviral vasta contra diversos vírus como H1N1, HBV e HCV, HSV-1, HIV, EBV6 e SARS-CoV-2. O *screening* efetuado aos ligandos de ACE2 com uma afinidade suficientemente forte para inibir a entrada do vírus veio a revelar que os polifenóis são promissores candidatos (22).

Num estudo clínico, foram realizados 51575 cálculos de *molecular dockings*, tendo por base as 6 conformações da proteína S: entre a interface de ACE2 e 8669 ligandos. Registaram-se os respetivos scores. Através do ranking, foram obtidos 47 ligandos com um score igual ou superior ao threshold (-7 kcal/mol), e destes, apenas 21 encontravam-se aprovados pelas identidades reguladoras (26).

Constatou-se que a coclaurina, a flavanona presente na planta Yerba Santa (*Eriodictyon dictyol, californicum*), o quercetol e quercitina e a luteolina-monoarabinosídeo possuem das ligações de afinidade mais potentes, com um score de -7; -7,1; -7,3 e -7,4 kcal/mol, respetivamente, de entre outros candidatos como pemirolast, um antihistamínico, nitrofurantoína, um antibiótico com indicação para infeções do trato urinário e piruvato de isoniazida, que é um metabolito do antibiótico para a tuberculose (26).

Estudos recentes sugerem que o consumo de resveratrol na dieta pode modular a severidade da SARS-CoV-2, através da regulação da expressão de ACE2. Em específico, num ensaio clínico em que alimentaram os camundongos à base de uma dieta rica em resveratrol, foi demonstrado um aumento da expressão de ACE2, quando comparado com roedores sem dieta rica em resveratrol. Diversos estudos demonstraram que a curcumina tem como alvo o RAS, regulando assim os níveis de angiotensina II nos camundongos. Em suma, estes estudos demonstram que os polifenóis possuem um poder modulador no que se refere aos sintomas da COVID-19 (22).

O resveratrol apresenta biodisponibilidade limitada, daí que formulações em nanopartículas e em administração intranasal foram propostas para aumentar a eficácia do tratamento da COVID-19 (22).

Os estudos que se seguem reportam evidências científicas do potencial dos polifenóis como agentes anti-SARS-CoV-2, tratando-se estes de estudos *in silico* e *in vitro*. Os mecanismos de ação putativos inerentes aos polifenóis encontram-se representados na Figura 20 (22).

Os fármacos cujo alvo é a proteína *spike* impedem a fusão membranar mediada por esta mesma proteína e previnem assim a entrada de vírus nas células hospedeiras. Estes agentes terapêuticos vacinas, anticorpos, RNA's de interferência, péptidos e pequenas moléculas não-peptídicas como os polifenóis (22).

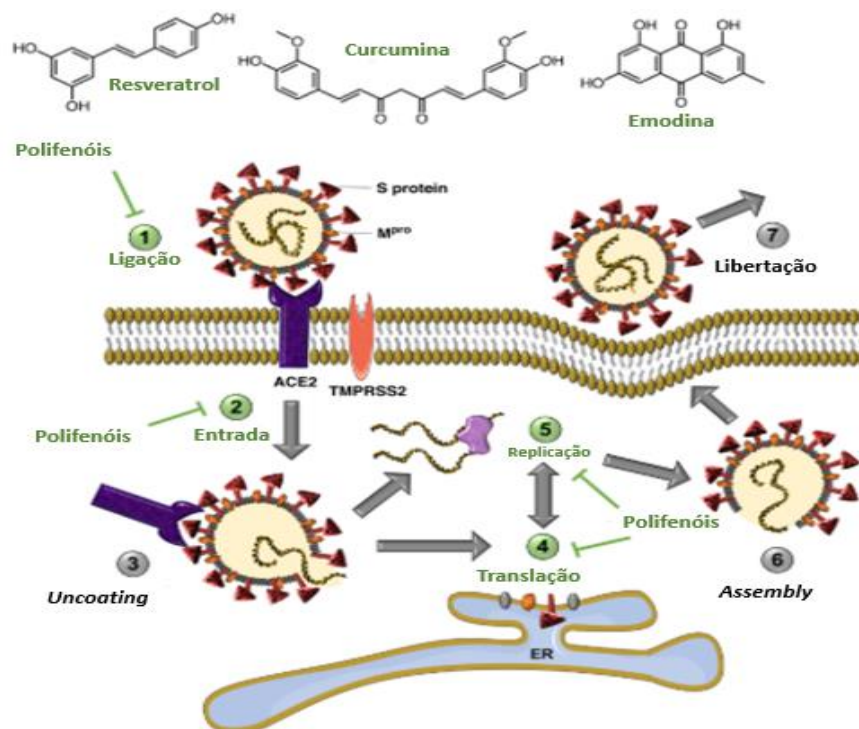


Figura 20-Efeitos dos polifenóis em diversos passos do ciclo de vida de SARS-CoV-2 (23).

A luteolina e quercetina inibem a entrada viral nas células Vero E6 com valores de EC50 de 10 mM e 83 mM, respetivamente. Neste mesmo estudo, descobriu-se que a luteolina se liga com elevada afinidade à proteína S, sugerindo assim um mecanismo de ação antiviral (22).

Uma descoberta baseada na literatura revela que a emodina e antraquinona, presentes nas raízes do ruibarbo (*Rheum officinale*) interferem na ligação proteína S-ACE2 com uma IC50 de 200 mM. (22).

De acordo com a análise de evidências científicas acerca da rede de interactoma do vírus-hóspede, a emodina, de entre 16 medicamentos *repurposable*⁵, para a COVID-19, foi considerada a que possuía menos efeitos adversos e maior afinidade para o alvo terapêutico (22).

Compostos naturais de inibidores de proteases são diarilheptanóides, terpenóides, amidas cinâmicas, flavonoides e cumarinas (22).

⁵ Medicamentos *repurposable* tem por base a investigação de medicamentos existentes no mercado com indicações aprovadas para outras patologias, na tentativa de obter terapêuticas em que rapidamente se consiga caracterizar a sua eficácia e segurança.

A análise da relação estrutura-atividade de sete polifenóis revelou que os flavonoides e isoflavonoides sem grupo OH na posição 5' no anel B têm menor atividade inibitória (22).

Através do *screening* por *molecular docking* de 33 moléculas antivirais, antifúngicas e antiprozoários, constatou-se que a rutina (flavonoides cítricos) se pode ligar ao sítio ativo de 3CLpro SARS-CoV-2 com a afinidade mais elevada de entre as restantes moléculas examinadas. Flavonoides dietéticos como kaempferol e isoliquiritigenina, assim como polifenóis provenientes de *Broussonetia papyrifera* inibem sinergicamente 3CLpro e PLpro *in vitro*. Outros citrinos como a tangeretina, naringenina e polifenóis de *curcuma spp.* demonstraram elevada afinidade com o domínio do substrato 3CLpro da SARS-CoV-2. Ensaio *in silico*, demonstraram que estes mesmos polifenóis interagem com a proteína S e ACE2 mais fortemente do que antivirais como lopinavir e nafamostat (22).

Um potencial inibidor de SARS-CoV-2 RdRp pelos polifenóis emergiu de evidências científicas de que o resveratrol inibia significativamente a replicação de MERS-CoV *in vitro*, através da inibição da expressão de RNA e do nucleocapsídeo (22).

Através de métodos computacionais, flavonas naturais, baicalina proveniente de *Scutellaria baicalensis* e diversas xantonas provenientes de *Swerti apseudochinensis* foram identificadas como potentes inibidores de RdRp (22).

Um outro estudo recente *in silico* demonstrou que galato de epigallocatequina, mirectina, quercetagetina e outros polifenóis exibem elevada afinidade para RdRp tanto para a SARS-CoV como para SARS-CoV-2 (22).

CAPÍTULO VII - ESTUDO CLÍNICO POLIFENÓIS E COVID-19

O estudo clínico *Encapsulated Food Products as a Strategy to Strengthen Immunity Against COVID-19 Soubhagya* de Tripathy S. et al revela como estratégia terapêutica contra a COVID-19 o reforço do sistema imunitário, através de lipossomas, contendo nutracêuticos, nomeadamente polifenóis. Este ensaio clínico é discutido de seguida (6).

Passando o tratamento também pela prevenção, o consumo de alimentos funcionais é uma solução sustentável, no que concerne ao combate a ataques virais (6).

Os compostos ativos provenientes dos alimentos, podem ser extraídos, encapsulados e usados no tratamento da COVID-19. No que se refere à encapsulação de polifenóis, os flavan-3-óis são extraídos de bolachas enriquecidas em extrato de grainha de uva, e a curcumina extraída do pão. Os BACs possuem elevada estabilidade e biodisponibilidade, permitem uma libertação sustentada dos compostos funcionais, inibem interações indesejadas e possuem atividades antimicrobiana e antioxidante elevadas (6).

Existem diversos BACs, de entre os quais, contendo curcumina e flavan-3-óis, os que possuem atividade imunológica através de diversos mecanismos. A seguinte (Figura 21) demonstra os mecanismos de transporte de BACs nas células epiteliais do intestino (6).

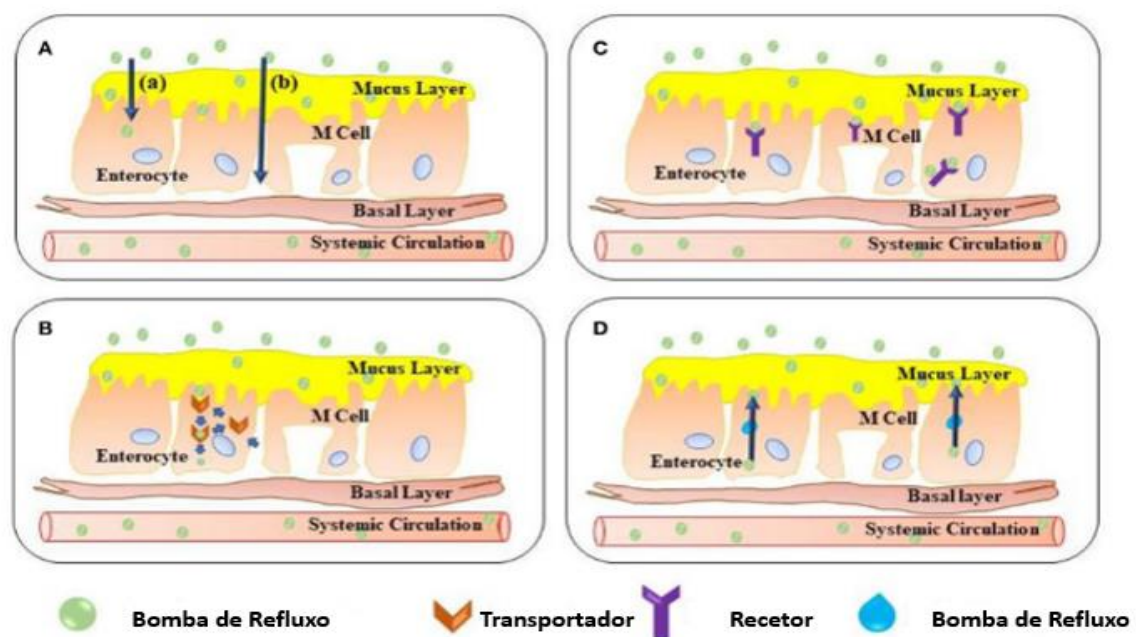


Figura 21-Mecanismos de transporte de BACs através das células de absorção intestinal (6).

(A) Difusão passiva: transporte transcelular (a) e paracelular (b).

(B) Transporte mediado por transportadores, permitindo a entrada ou saída de BACs das células devido à pressão osmótica. (C) Transporte mediado por recetores, no qual o BAC é diretamente ligado e internalizado pelas células aos recetores celulares de superfície.

(D) De entre os mecanismos de bombas de efluxo, a mais importante é a bomba dependente de ATP, glicoproteína-P nas células epiteliais do intestino. Esta via foi reportada por especificamente afetar a biodisponibilidade dos polifenóis.

O transporte de nanopartículas através de BACs pode ocorrer por transporte passivo transcelular, paracelular e endocitose. Posto isto, é esperado que estes lipossomas melhorem substancialmente os benefícios dos nutraceuticos (6).

Os compostos funcionais devem passar pelo trato GI e ser absorvidos pelas células entéricas epiteliais, porém a baixa solubilidade em água e a baixa estabilidade conduzem a uma absorção condicionada e limitada. A pH 2.0, ocorre a degradação de compostos funcionais no estômago. Por conseguinte, muitos produtos alimentares possuem baixa biodisponibilidade. Face a tal problema, os transportadores baseados em nanopartículas são muito promissores para os BACs, uma vez que, à escala nano, há uma absorção entérica epitelial bastante superior (Figura 22) (6).

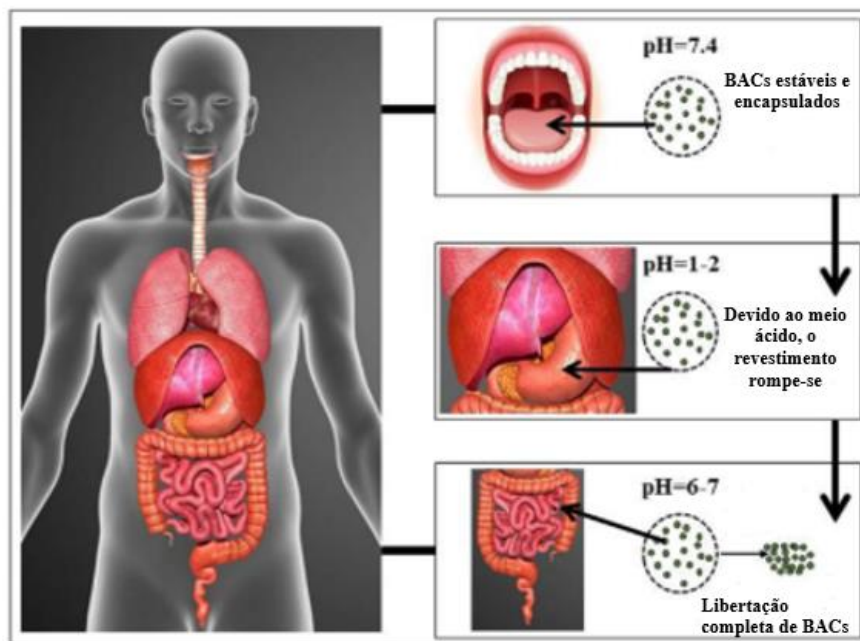


Figura 22-Efeito dos diferentes pH's nos BACs nas diferentes áreas do corpo humano (6).

A síntese de BACs encontra-se representada seguidamente (Figura 23) (6).

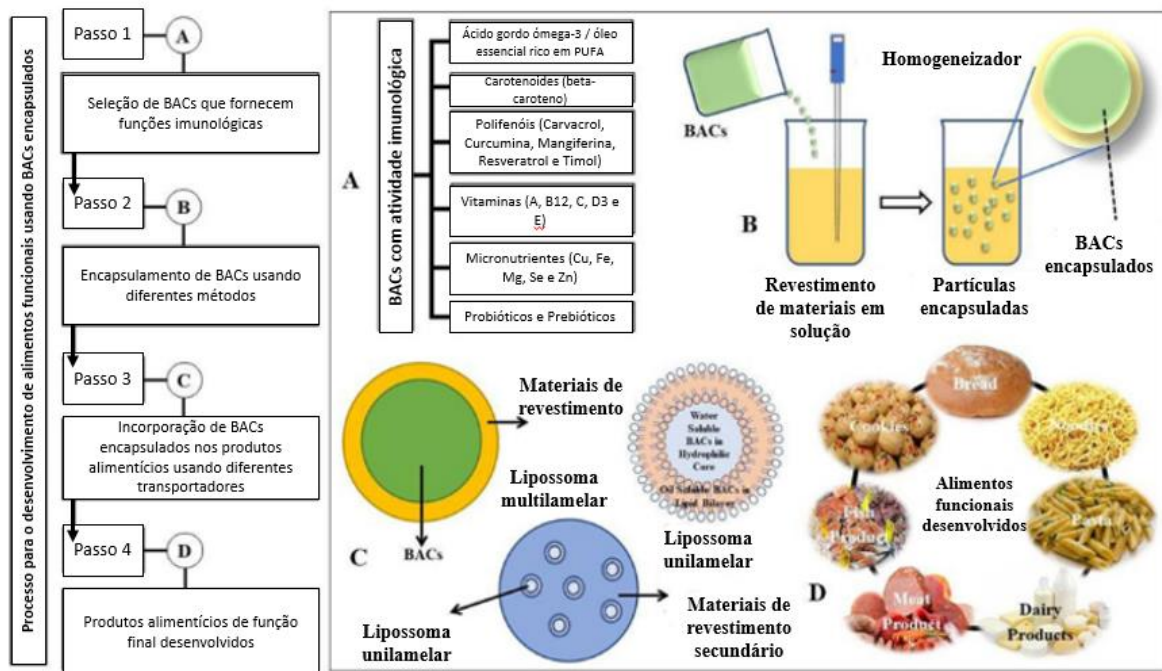


Figura 23-Diagrama esquemático de fluxo geral da síntese de BACs (6).

CAPÍTULO VIII – ENSAIOS CLÍNICOS POLIFENÓIS E COVID-19

Os polifenóis têm demonstrado propriedades biológicas no combate a patologias respiratórias, encontrando-se relacionados com a supressão da inflamação, reduzindo a estimulação de citocinas pró-inflamatórias. Estes são também potentes antioxidantes, eliminando e reduzindo a produção de ROS, e possuem ainda atividade antiviral (27).

Até à presente data, diversos ensaios clínicos acerca dos polifenóis no combate à COVID-19 encontram-se a decorrer (27).

No que se refere aos critérios de inclusão, os ensaios 1 e 2, *A Comparative Randomized Clinical Trial on COVID-19 Positive Hospitalized Patients Treated With NASAFYTOL® (Curcuma, Quercetina e Vitamina D3) e Study of the P2Et Extract Obtained From Caesalpinia Spinosa in the Symptomatic Treatment of Subjects With COVID-19*, respetivamente, incluem adultos COVID-19 positivos hospitalizados com mais de 18 anos de idade, inclusive (Tabela 2) (27).

No que se refere aos critérios de inclusão, o ensaio 3, *Randomized Proof-of-Concept Trial to Evaluate the Safety and Explore the Effectiveness of Resveratrol, a Plant Polyphenol, for*

COVID-19, inclui adultos *COVID-19* positivos hospitalizados com mais de 45 anos de idade, inclusive. Os três ensaios clínicos aceitam ambos os sexos (Tabela 2) (27).

ENSAIO 1 - A Comparative Randomized Clinical Trial on COVID-19 Positive Hospitalized Patients Treated With NASAFYTOL® (Curcuma, Quercetina e Vitamina D3)

Este ensaio clínico encontra-se a decorrer na Bélgica. Neste ensaio foram dadas cápsulas contendo curcuma, quercetina e vitamina D3 a doentes *COVID-19* positivos hospitalizados diariamente (Tabela 2) (27).

A eficácia e segurança de NASAFYTOL® foram avaliadas usando diversos parâmetros. No que concerne ao parâmetro acerca da condição clínica, esta foi avaliada segundo uma pontuação ordinal da OMS. Esta escala reflete uma variação de não infetado a morto, onde 0 é "nenhuma evidência clínica ou virológica de infeção", 1 é "sem limitação de atividades", 2 é "limitação de atividades", 3 é "hospitalizado, sem oxigenoterapia", 4 é "oxigénio por máscara", 5 é "ventilação não invasiva ou oxigénio de alto fluxo", 6 é "intubação e ventilação mecânica", 7 é "ventilação e suporte de órgão adicional - pressores, TRS (terapia de substituição renal), ECMO (oxigenação por membrana extracorpórea) ", e 8 é " morte " (27).

Os critérios de exclusão incluíram:

- Contra-indicação a NASAFYTOL®: hipersensibilidade ou alergia a algum constituinte;
- Disfagia;
- Presença de comorbidades que implicam um mau prognóstico (segundo julgamento clínico);
- Mulheres grávidas ou a amamentar; Se a doente for uma mulher com potencial para engravidar, deverá recorrer a métodos contracecionais.
- Infeções bacterianas graves ou ativas ou sepsis documentada por agentes patogénicos diferentes da SARS-CoV-2;
- Doentes que se encontram a participar noutros ensaios clínicos;
- Doentes com comprometimento agudo da função renal ou nefrolitíase;
- ALT / AST > 5 vezes o limite normal;
- Neutropenia;

- Trombocitopenia.

ENSAIO 2 - Study of the P2Et Extract Obtained From Caesalpinia Spinosa in the Symptomatic Treatment of Subjects With COVID-19

Este ensaio encontra-se a decorrer na Colombia. O extrato P2Et padronizado, (extrato de *Caesalpinia spinosa*) obtido de *C. spinosa*, é altamente antioxidante, diminuindo a peroxidação lipídica e os danos tecidulares. Induz ainda a autofagia completa em células stressadas ou tumorais. Pensa-se que a indução de um fluxo autofágico completo possa inibir a replicação de beta-coronavírus como o SARS-CoV-2 (Tabela 2) (27).

No que se refere aos critérios de exclusão, estes incluíram:

- Teste de diagnóstico laboratorial negativo para COVID-19, antes da randomização;
- Gravidez;
- História de reações alérgicas atribuídas a compostos polifenólicos.

ENSAIO 3 - Randomized Proof-of-Concept Trial to Evaluate the Safety and Explore the Effectiveness of Resveratrol, a Plant Polyphenol, for COVID-19

Este estudo encontra-se a decorrer em Ohio, EUA (Tabela 2) (27).

No que concerne aos critérios de exclusão estes incluíram:

- Comprometimento cognitivo diagnosticado ou suspeito que impediria o doente de cooperar com os procedimentos do estudo;
- Doentes assintomáticos;
- Doença hepática conhecida ou suspeita ou hepatite C;
- Doença renal conhecida;

- Doentes a tomar varfarina, novos anticoagulantes orais (NOACs), inibidores da protease, imunossuppressores, hidroxicloroquina / cloroquina e outros medicamentos com uma janela terapêutica estreita;
- Alergia a uva ou arroz;
- Comorbidades com elevada probabilidade de hospitalização em 30 dias (Tratamento atual do cancro, DPOC grave ou ICC);
- Atualmente grávida.

Tabela 2-Ensaio clínico acerca dos efeitos biológicos de alguns polifenóis na COVID-19.

Ensaio Clínico			
<i>Ensaio 1 - A Comparative Randomized Clinical Trial on COVID-19 Positive Hospitalized Patients Treated With NASAFYTOL® (Curcuma, Quercetina e Vitamina D3)</i>	Início 17 de fevereiro 2021	Randomizado (50 adultos COVID-19 positivos hospitalizados) Placebo	<i>Outcome:</i> Melhoria da condição clínica do doente com base na pontuação ordinal de resultados da OMS
<i>Ensaio 2 - Study of the P2Et Extract Obtained From Caesalpinia Spinosa in the Symptomatic Treatment of Subjects With COVID-19</i>	Início 30 de setembro 2020 Fase 2 (5 de outubro 2020)	Randomizado (100 adultos COVID-19 positivos hospitalizados) Placebo	<i>Outcome:</i> Redução do tempo de hospitalização
<i>Ensaio 3 - Randomized Proof-of-Concept Trial to Evaluate the Safety and Explore the Effectiveness of Resveratrol, a Plant Polyphenol, for COVID-19</i>	Início 26 de maio 2020 Fase 2 (25 de maio 2021)	Randomizado (200 adultos COVID-19 positivos hospitalizados) Placebo	<i>Outcome:</i> Redução do tempo de hospitalização

CAPÍTULO IX - CONCLUSÃO

A COVID-19 é uma doença viral com uma componente inflamatória variavelmente extensa, e determinados fatores de risco aumentam a suscetibilidade dos indivíduos à mesma. Um sistema imunológico forte e saudável deverá ser capaz de reconhecer e adaptar-se ao ambiente envolvente. Desta forma, os polifenóis podem ser incluídos como terapêutica adjuvante à COVID-19, devido aos múltiplos mecanismos inerentes aos mesmos. Conclui-se que os polifenóis possuem atividade anti-inflamatória, antioxidante e antiviral. Os polifenóis têm como alvo as proteínas virais e bloqueiam os recetores celulares, prevenindo, por conseguinte, a entrada e replicação viral nas células hospedeiras. Em suma, verifica-se uma relação positiva e causal entre a COVID-19 e os polifenóis (4) (6).

O encapsulamento de polifenóis com atividade imunológica, e o consumo dos mesmos através da dieta, podem aumentar e melhorar o funcionamento do sistema imunitário da saúde humana a doenças como a COVID-19. Porém, muito compostos não foram investigados no que concerne aos seus efeitos imunológicos, sendo que é necessária uma investigação mais aprofundada relativamente a esta matéria para detetar mais compostos para introduzir em lipossomas com a finalidade de tratar a pandemia COVID-19 (6).

Os ensaios clínicos que se encontram a decorrer são muito relevantes para o combate à SARS-CoV-2, uma vez que os *outcomes* foram a redução do tempo de hospitalização e a melhoria da condição clínica de doentes COVID-19 (27).

Em suma, os polifenóis têm um elevado potencial terapêutico na prevenção de COVID-19. As terapias farmacológicas atuais atuam por inibição de alguns recetores ou cascatas de citocinas pro-inflamatórias. Todavia, observa-se que para alguns doentes tal não é suficientemente eficaz. Assim, seria interessante aumentar o aporte de informação sobre o tipo e funções dos polifenóis relativamente à sua relação com a COVID-19 e, deste modo, incluir novas terapêuticas no combate contra a doença.

BIBLIOGRAFIA

1. Fraga CG, Croft KD, Kennedy DO, Tomás-Barberán FA. The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food Funct.* 2019;10(2):514–28.
2. Gao Y dong, Ding M, Dong X, Zhang J jin, Kursat Azkur A, Azkur D, et al. Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: A review. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2020;76(2):428–55.
3. Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of covid-19. *Viruses.* 2020;12(4):1–17.
4. El-Missiry MA, Fekri A, Kesar LA, Othman AI. Polyphenols are potential nutritional adjuvants for targeting COVID-19. *Phyther Res.* 2020;(December):1–11.
5. K. P. Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Landes Biosci [Internet].* 2009; Disponível em: https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structures-of-sub-classes-of-flavonoids-Based-on-the-variation-in-the-type-of_fig3_45694943
6. Tripathy S, Verma DK, Thakur M, Patel AR, Srivastav PP, Singh S, et al. Encapsulated Food Products as a Strategy to Strengthen Immunity Against COVID-19. *Front Nutr.* 2021;8(May):1–23.
7. Daglia M. Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol [Internet].* 2012;23(2):174–81. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.007>
8. Mithul Aravind S, Wichienchot S, Tsao R, Ramakrishnan S, Chakkaravarthi S. Role of dietary polyphenols on gut microbiota, their metabolites and health benefits. *Food Res Int [Internet].* 2021;142(October 2020):110189. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110189>
9. Marín L, Miguélez EM, Villar CJ, Lombó F. Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: Antimicrobial properties. *Biomed Res Int.* 2015;2015:18.
10. Compound P, Acid T, Agent A, Ghani U. Polyphenol Polyphenols Polyphenols Endothelial Protective Effects of Dietary Phytochemicals : Focus on Polyphenols and Carotenoids Studies in Natural Products Chemistry Bioactive Natural Products Self-Assembly Processes at Interfaces 23rd European Symposi. 2020;

11. Crichton GE, Elias MF, Alkerwi A, Stranges S, Abhayaratna WP. Relation of Habitual Chocolate Consumption to Arterial Stiffness in a Community-Based Sample: Preliminary Findings. *Pulse*. 2016;4(1):28–37.
12. Cassidy A, Bertola M, Chiuve S, Flint A, Forman J, Rimm EB. Habitual intake of anthocyanins and flavanones and risk of cardiovascular disease in men. *Am J Clin Nutr*. 2016;104(3):587–94.
13. A.Cassidy, K.Mukamal LL et al. A high anthocyanin intake is associated with a reduced risk of myocardial infarction in young and middle-aged women. *NIH*. 2013;23(1):1–7.
14. Huang H, Chen G, Liao D, Zhu Y, Xue X. Effects of Berries Consumption on Cardiovascular Risk Factors: A Meta-analysis with Trial Sequential Analysis of Randomized Controlled Trials. *Sci Rep* [Internet]. 2016;6(January):1–11. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/srep23625>
15. Vanamala J, Radhakrishnan S, Reddivari L, Bhat VB, Ptitsyn A. Resveratrol suppresses human colon cancer cell proliferation and induces apoptosis via targeting the pentose phosphate and the talin-FAK signaling pathways-A proteomic approach. *Proteome Sci* [Internet]. 2011;9(1):49. Disponível em: <http://www.proteomesci.com/content/9/1/49>
16. J. Tomé-Carneiro ML et al. Resveratrol and Clinical Trials: The Crossroad from In Vitro Studies to Human Evidence. *Curr Pharm Des*. 2013;73(4):6064–93.
17. Mehany T, Khalifa I, Barakat H, Althwab SA, Alharbi YM, El-Sohaimy S. Polyphenols as promising biologically active substances for preventing SARS-CoV-2: A review with research evidence and underlying mechanisms. *Food Biosci* [Internet]. 2021;40(2020):100891. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100891>
18. Kesse-Guyot E, Fezeu L, Andreeva VA, Touvier M, Scalbert A, Hercberg S, et al. Total and specific polyphenol intakes in midlife are associated with cognitive function measured 13 years later. *J Nutr*. 2012;142(1):76–83.
19. INFARMED. RCM Daflon. 2013;53(9):1689–99.
20. INFARMED. RCM Valdispert. 2013;4–8.
21. NIH. Visão geral do COVID-19. 2021; Disponível em:

- <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/overview/overview-of-covid-19/>
22. Paraiso IL, Revel JS, Stevens JF. Potential use of polyphenols in the battle against COVID-19. *Curr Opin Food Sci* [Internet]. 2020;32:149–55. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.08.004>
 23. Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends Immunol* [Internet]. 2020;41(12):1100–15. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.10.004>
 24. Autoimmunity Reviews. ELSEVIER. 2020;(January).
 25. NIH. Therapeutic Management of Adults With COVID-19 [Internet]. 2021 [citado 15 de Junho de 2021]. Disponível em: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/management/therapeutic-management/>
 26. Smith M, Smith J. Repurposing Therapeutics for COVID-19: Supercomputer-Based Docking to the SARS-CoV-2 Viral Spike Protein and Viral Spike Protein-Human ACE2 Interface. *ChemRxiv*. 2020;
 27. NIH. COVID-19 Clinical Trials [Internet]. 2020. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/>