


Millenium - Revista de Educação, Tecnologias e Saúde, 2(ed espec nº10), 77-92.

pt

NANOPARTÍCULAS NO TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER: ARTIGO DE REVISÃO
NANOPARTICLES FOR THE TREATMENT OF THE ALZHEIMER'S DISEASE: REVIEW ARTICLE
NANOPARTÍCULAS PARA EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER: ARTÍCULO DE REVISIÓN

*Luísa Cruz-Lopes*¹  <https://orcid.org/0000-0001-6502-7202>

*Ana Lopes*²

*Maria Escudeiro*³

*Cláudia Duarte*⁴  <https://orcid.org/0000-0001-9126-4623>

*Rafaela Ferreira*⁴

*Francisco Graça*⁴  <https://orcid.org/0000-0002-0241-3365>

*Isaura Silva*⁴

*Bruno Esteves*¹  <https://orcid.org/0000-0001-6660-3128>

¹ Instituto Politécnico de Viseu, Escola Superior de Tecnologia e Gestão de Viseu, CERNAS, Viseu, Portugal

² Escola Secundária Viriato, Viseu, Portugal

³ Universidade do Porto, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Porto, Portugal

⁴ Instituto Politécnico de Viseu, 3504-510 Viseu, Portugal

Luísa Cruz-Lopes - lvalente@estgv.ipv.pt | Ana Lopes - a12069@esviriato.pt | Maria Escudeiro - ua20160443@up.pt |

Cláudia Duarte - pv22380@alunos.estgv.ipv.pt | Rafaela Ferreira - pv23825@alunos.estgv.ipv.pt | Francisco Graça - pv23822@alunos.estgv.ipv.pt |

Isaura Silva - estgv14894@alunos.estgv.ipv.pt | Bruno Esteves - bruno@estgv.ipv.pt



Autor Correspondente

Luísa Cruz-Lopes

Escola Superior de Tecnologia e Gestão de Viseu

Campus Politécnico

3504-510 Viseu - Portugal

lvalente@estgv.ipv.pt

RECEBIDO: 17 de janeiro de 2022

ACEITE: 03 de junho de 2022

RESUMO

Introdução: A Doença de Alzheimer é uma patologia neurodegenerativa primária, de etiologia desconhecida e influenciada por vários fatores com aspetos neuropatológicos e neuroquímicos característicos. Atualmente, os fármacos aprovados para o tratamento desta doença apenas permitem aliviar os sintomas sendo acompanhados por diversos efeitos secundários. A nanotecnologia aparece como alternativa para o tratamento do Alzheimer, por oferecer muitas vantagens para a medicina contemporânea permitindo um diagnóstico e tratamento não invasivos e direcionados, reduzindo as reações adversas e os efeitos sistémicos.

Objetivo: Reconhecer as potencialidades do uso de nanopartículas no tratamento da Doença de Alzheimer, identificando os tratamentos mais promissores e quais os seus possíveis efeitos secundários.

Métodos: Revisão bibliográfica narrativa a partir de consulta a bases de dados como Science Direct, Web of Science, PubMed e Scielo.

Resultados: As nanopartículas de ouro mostram-se capazes de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), carregando fármacos essenciais para a inibição da agregação dos péptidos A β , bem como dissolver fibrilhas pré-existentes. Polímeros biodegradáveis e biocompatíveis, como o polilactídeo poliglicólico (PLGA), constituem uma abordagem promissora e segura, tendo sido muito utilizados. As melhores técnicas são aquelas que garantem que as nanopartículas são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), atingir o seu alvo terapêutico, bem como garantir que estas partículas não induzem efeitos tóxicos no organismo. Apesar das nanopartículas serem capazes de tratar algumas doenças de forma eficiente, pouco se conhece sobre os seus efeitos secundários, estes poderão ou não ser mais danosos para o organismo do que a doença que pretendem tratar.

Conclusão: Existem várias abordagens terapêuticas promissoras, porém nenhuma ainda aprovada, uma vez que é difícil manter concentrações adequadas de fármaco no espaço intraneuronal. Estabelecer a dose tóxica é necessário para o uso aprovado de uma nanopartícula num tratamento, porém é quase impossível prever os seus efeitos citotóxicos em regiões extra-neuronais.

Palavras-chave: doença de alzheimer; nanomateriais; plga; nanotecnologia; toxicidade

ABSTRACT

Introduction: Alzheimer's Disease is a primary neurodegenerative pathology of unknown etiology and influenced by several factors with characteristic neuropathological and neurochemical features. Currently, drugs approved for the treatment of this disease only allow to relieve symptoms and are accompanied by several side effects. Nanotechnology appears as an alternative for the treatment of Alzheimer's, as it offers many advantages to modern medicine allowing a non-invasive and targeted diagnosis and treatment, reducing adverse reactions and systemic effects.

Objective: The article aims to recognize the potential of using nanoparticles in the treatment of Alzheimer's Disease, identifying the most promising treatments and their possible side effects.

Methods: A narrative bibliographic review based on consulting databases such as Science Direct, Web of Science, PubMed and Scielo.

Results: Gold nanoparticles are capable of crossing BHE, carrying essential drugs to inhibit the aggregation of A β peptides, as well as dissolve pre-existing fibrilla. Biodegradable and biocompatible polymers, such as polyglycolic polylactide (PLGA), are a promising and safe approach and have been widely used. The best techniques are those that guarantee that nanoparticles are capable of crossing the BHE, reach their therapeutic target, as well as guarantee that these particles do not induce toxic effects in the body. Although nanoparticles are able to treat some diseases efficiently, little is known about their side effects, they may or may not be more harmful to the body than the disease they intended to treat.

Conclusion: There are several promising therapeutic approaches, but none has yet been approved, since it is difficult to maintain adequate drug concentrations in the intraneuronal space. Establishing the toxic dose is necessary for the approved use of a nanoparticle in a treatment, but it is almost impossible to predict its cytotoxic effects in extraneuronal regions.

Keywords: alzheimer's disease; nanomaterials; plga; nanotechnology; toxicity

RESUMEN

Introducción: La Enfermedad de Alzheimer es una patología neurodegenerativa primaria, de etiología desconocida e influenciada por varios factores con aspectos neuropatológicos y neuroquímicos característicos. Actualmente, los fármacos aprobados para el tratamiento de esta enfermedad solo alivian los síntomas y se acompañan de diversos efectos secundarios. La nanotecnología aparece como una alternativa para el tratamiento del Alzheimer, ya que ofrece muchas ventajas a la medicina contemporánea, permitiendo un diagnóstico y tratamiento no invasivo y dirigido, reduciendo las reacciones adversas y los efectos sistémicos.

Objetivo: Reconocer las potencialidades del uso de nanopartículas en el tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer, identificando los tratamientos más prometedores y sus posibles efectos secundarios.

Métodos: Revisión bibliográfica narrativa a partir de consulta a bases de datos como Science Direct, Web of Science, PubMed y Scielo.

Resultados: Las nanopartículas de oro se muestran capaces de atravesar la barrera hematoencefálica (BHE), transportando fármacos esenciales para inhibir la agregación de péptidos A β , así como para disolver fibrillas preexistentes. Los polímeros biodegradables y biocompatibles, como el polilactideo poliglicólico (PLGA), son un enfoque prometedor y seguro, habiendo sido muy utilizados. Las mejores técnicas son aquellas que garantizan que las nanopartículas sean capaces de atravesar la barrera hematoencefálica (BHE), alcanzar su objetivo terapéutico, así como garantizar que estas partículas no induzcan efectos tóxicos en el organismo. Aunque las nanopartículas sean capaces de tratar algunas enfermedades de forma eficiente, se sabe poco sobre sus efectos secundarios, que pueden o no ser más dañinos para el organismo de lo que la enfermedad que pretenden tratar.

Conclusión: Existen varios enfoques terapéuticos prometedores, pero ninguno aún ha sido aprobado, ya que es difícil mantener concentraciones adecuadas de fármaco en el espacio intraneuronal. Establecer la dosis tóxica es necesario para el uso aprobado de una nanopartícula en un tratamiento, pero es casi imposible predecir sus efectos citotóxicos en regiones extraneuronales.

Palabras Clave: enfermedad de alzheimer; nanomateriales; eglp; nanotecnología; toxicidad

INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é um conjunto de conhecimentos e de tecnologia que utiliza materiais e as suas interações ao nível molecular e atômico (tamanhos entre 0,1 e 100 nm) (Hock & Gralinski, 2020; Zeng *et al.*, 2021). O pequeno tamanho das nanopartículas é comparável ao dos ácidos nucleicos, proteínas e anticorpos (Zeng *et al.*, 2021) e as alterações das suas propriedades físicas e químicas, em comparação com os seus análogos macromoleculares, oferecem muitas vantagens para a medicina contemporânea como maior fiabilidade na administração de medicamentos, diagnóstico e tratamento não invasivos e direcionados, reduzindo as reações adversas e os efeitos sistémicos (Hock & Gralinski, 2020; Nikolova *et al.*, 2020).

No entanto, as mesmas diferenças nas propriedades físicas e químicas das nanopartículas podem levar a efeitos colaterais graves e imprevisíveis para o corpo humano e para o ecossistema global, incluindo os efeitos mutagénicos, cancerígenos, aumento do potencial inflamatório e toxicidade (Zeng *et al.*, 2021). A nanotecnologia auxilia no diagnóstico e tratamento de doenças degenerativas (Ling *et al.*, 2021), como o Alzheimer, na qual apresenta um grande potencial quer no diagnóstico quer numa abordagem alternativa de tratamento (Ling *et al.*, 2021), visto conseguirem atravessar a BHE diminuindo assim os sintomas da doença (Ling *et al.*, 2021).

A doença de Alzheimer (DA), principal causa de Demência, inicia com a acumulação anormal de agregados A β que se depositam sob a forma de placas amiloides e emaranhados neurofibrilares da proteína tau levando à perda de neurónios (Figura 1), resultando em danos cerebrais que afetam o sistema cognitivo (A. Li *et al.*, 2021).

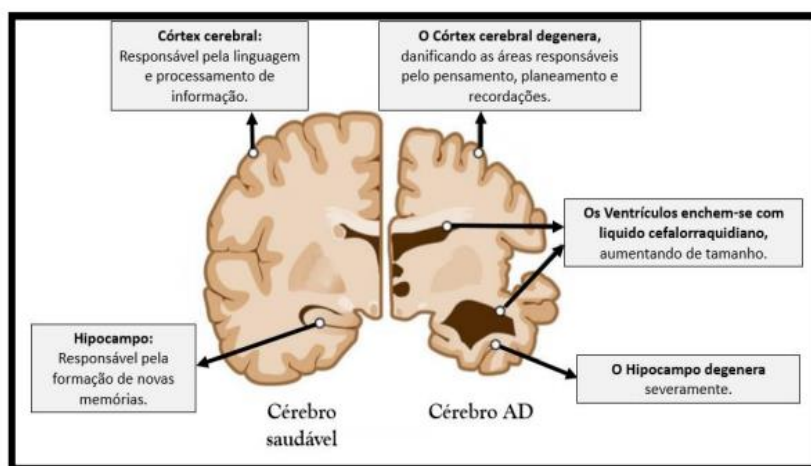


Figura 1 - Comparação de um cérebro saudável com um cérebro com Alzheimer. Adaptado de Sousa (Sousa, 2017).

De acordo com o Relatório da OCDE de 2017 (OECD, 2017), são apresentados novos dados sobre a prevalência da demência, colocando Portugal como o quarto país com mais casos por cada mil habitantes. A média da OCDE é de 14,8 casos por cada mil habitantes, sendo que para Portugal a estimativa é de 19,9. De acordo com este relatório, a estimativa do número de casos com demência para Portugal sobe para mais de 205 mil pessoas, número que subirá para os 322 mil casos até 2037 (OECD, 2017).

A doença de Alzheimer pode ser classificada em cinco fases: pré-clínica, MCI (comprometimento cognitivo leve provocado pela DA), suave, moderada e severa, sendo que cada uma das fases apresenta alterações neuropatológicas e sintomas específicos assim como terapêuticas diferenciadas (Faiyaz, 2021), Figura 2.

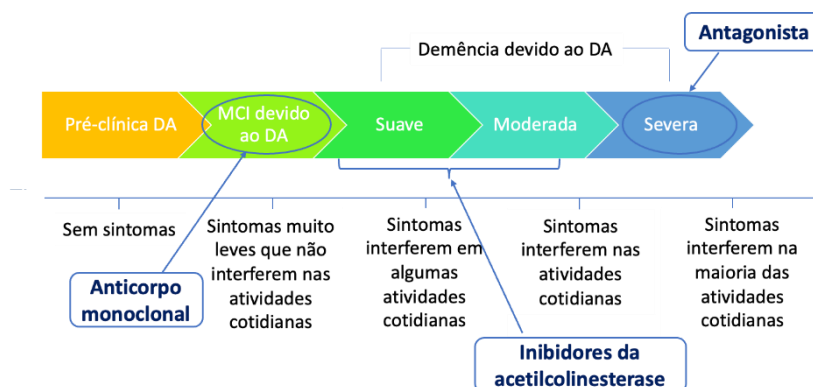


Figura 2 - Cinco fases da doença de Alzheimer.

A etiologia subjacente da DA permanece desconhecida e muitas pesquisas são direcionadas em relação à sua patogênese envolvendo múltiplos fatores que foram apresentados como hipóteses, destacando-se acumulação de proteína β -amiloide ($A\beta$), hiperfosforilação da proteína tau e hipótese colinérgica (Figura 3) (Menghani *et al.*, 2021; Zeng *et al.*, 2021).

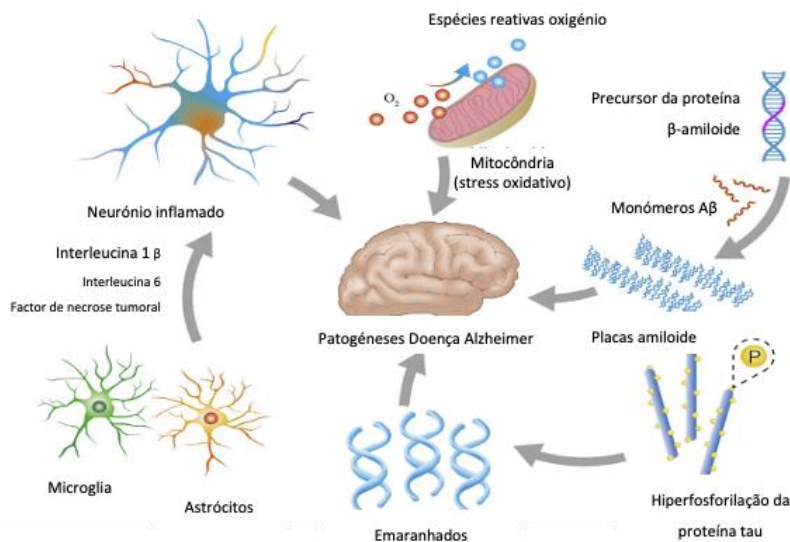


Figura 3 - Representação esquemática da patologia de Alzheimer. Adaptado de Zeng *et al.*, 2021.

A hipótese da cascata $A\beta$ é das teorias mais amplamente aceites para a patogênese da DA e tem dominado as pesquisas dos últimos 30 anos. Uma das evidências que suporta esta hipótese é a acumulação excessiva de péptidos $A\beta$ que eventualmente levam à formação de placas senis extracelulares (SPs) no cérebro (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2020). Sabe-se que $A\beta$ é um metabolito normal do corpo, hidrolisado a partir da proteína precursora (APP) da β -amiloide. Assim, em condições fisiológicas normais, a maior parte das APP são clivadas por α -secretase, β -secretase e γ -secretase formando um fragmento solúvel. Contudo, ao mesmo tempo, algumas $A\beta$ são clivadas por β -secretase e γ -secretase no lisossoma citoplasmático; em condições normais a produção e degradação estão em equilíbrio dinâmico, mas quando o metabolismo da proteína precursora é anormal, a produção aumentada de $A\beta$ e/ou diminuição da degradação, leva a um grande aumento da acumulação de $A\beta$. Como resultado do equilíbrio dinâmico de $A\beta$ entre as formas fibrosas, oligoméricas e monoméricas, o estado oligomérico deste peptídeo é o mais tóxico e, por isso, a contínua acumulação causará um movimento das estruturas para essa forma, produzindo um efeito tóxico nos neurónios (Fulop *et al.*, 2018; Zeng *et al.*, 2021).

A hiperfosforilação da proteína tau é outro mecanismo neuropatológico possível que leva à DA (Ma *et al.*, 2017; Sharma *et al.*, 2019). As pesquisas mostram que pacientes mais idosos com DA podem apresentar valores até 300 % acima do valor normal da proteína tau quando comparados com pacientes saudáveis (Zeng *et al.*, 2021).

As proteínas tau são altamente solúveis e associadas aos microtúbulos; a principal função desses compostos é estabilizar os microtúbulos, especialmente axónios, na forma fosforilada. Os efeitos fisiológicos da fosforilação da tau incluem a regulação dinâmica dos microtúbulos, crescimento de sinapses e transporte axonal (Sharma *et al.*, 2019). Assim, sob condições fisiológicas, a fosforilação e desfosforilação da proteína tau permanecem em equilíbrio dinâmico, mas no caso de DA, vários fatores interagem e levam à hiperfosforilação. Portanto, a hiperfosforilação das proteínas tau tende a agregar anormalmente filamentos espirais emparelhados, perdendo a capacidade de manter a normal morfologia e função dos microtúbulos, processo que resulta em dano degenerativo dos neurónios (Ma *et al.*, 2017). A hiperfosforilação da proteína tau também ocupa anormalmente o sítio de ligação da tubulina o que faz com que seja difícil para as proteínas de condução retornarem normalmente ao microtúbulo, isso leva também à perda da função microscópica e dano irreversível nos neurónios (Ma *et al.*, 2017; Zeng *et al.*, 2021).

A acetilcolina (ACh) é o primeiro defeito no neurotransmissor que foi encontrado na DA. Apo-lipo-proteína E (APOE) é o genótipo mais importante associado à DA. A Colina acetil-transferase e a acetilcolinesterase são os principais marcadores para neurónios colinérgicos que desempenham um papel importante na síntese e degradação de ACh (Hampel, *et al.*, 2018a; Hampel, *et al.*, 2018b).

O nível de ACh diminuiu nas áreas do cérebro - córtex e hipocampo - que estão envolvidos na cognição e na memória. São afetados principalmente os neurónios colinérgicos do núcleo basal e do córtex entorrinal (Hampel, *et al.*, 2018a; Hampel, *et al.*, 2018b).

Este reconhecimento do papel da acetilcolina na memória e aprendizagem levam à hipótese colinérgica. A melhor abordagem usada na DA é a inibição da colinesterase. A Tacrina foi o primeiro medicamento aprovado para uso clínico em DA. O donepezilo (Aricept®), rivastigmina (Exelon®) e galantamina (Reminyl®) são os três novos inibidores de colinesterases atualmente disponíveis (Menghani *et al.*, 2021).

Atualmente as terapias convencionais para DA consistem na utilização de inibidores da acetilcolinesterase (Galantamina, Tacrina, Donepezil, Rivastigmina) e antagonista (Memantina) (Zeng *et al.*, 2021).

Os inibidores da acetilcolinesterase são medicamentos que restringem a quebra da acetilcolina pela enzima colinesterase e, portanto, levam a um aumento da concentração de acetilcolina nas fendas sinápticas (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2020). Em Portugal os três medicamentos aprovados para as fases leve a moderada são a donepezila, rivastigmina e galantamina.

Relativamente ao método antagonista, a memantina indicada para os casos moderados ou graves, é o único medicamento de N-metil D-Aspartato (NMDA) autorizado em Portugal no tratamento da DA. A disfunção mitocondrial e a sobrecarga de cálcio foram resultadas da excitotoxicidade mediada do glutamato, levando ao aumento de óxido nítrico responsável pela formação de altos níveis de oxidantes e apoptose neuronal. Este processo completo é bloqueado pelo antagonista recetor NMDA (Barbosa *et al.*, 2020; Menghani *et al.*, 2021).

Estas terapias apenas aliviam os sintomas sendo acompanhados por efeitos como náuseas, diarreias e em alguns casos, efeitos a nível cardíaco (Vaz & Silvestre, 2020; Zeng *et al.*, 2021). Medicamentos como a Tacrina foram retirados do mercado devido à sua hepatotoxicidade.

Em junho de 2021 foi aprovado pela FDA o medicamento Aducanumab, trata-se de um anticorpo monoclonal humano com capacidade para reduzir em dose e forma as placas A β acumuladas no cérebro (Dunn *et al.*, 2021; Walsh *et al.*, 2021).

1. MÉTODOS

A metodologia consiste em uma revisão bibliográfica realizada a partir da consulta às principais plataformas de comunicação científica consultadas através do Google Académico, como *Science Direct*, *Web of Science*, *PubMed* e *SciELO*. Numa primeira fase, efetuou-se a pesquisa dos artigos científicos contidos nas plataformas científicas previamente citadas para definir e desenvolver os aspetos relacionados ao tema a ser apresentado: as nanopartículas no tratamento da doença de Alzheimer, incluindo as nanopartículas desenvolvidas, as técnicas mais promissoras e a toxicidade dos nanomateriais. A pesquisa fez-se através da análise de palavras-chave presentes nos títulos, nos resumos e nos termos indexados que descrevem os artigos.

Durante a investigação bibliográfica, as principais palavras-chave pesquisadas foram: “*Alzheimer’s disease*”, “*nanotechnology*”, “*nanomaterials*”, “*toxicity*” e “*PLGA*” tendo sido considerados para esta revisão os artigos publicados durante o período de 2011 a 2021. A Figura 4 foi obtida pelo software VOSviewer a partir das palavras-chave presentes nos artigos selecionados, em que sua ocorrência tenha acontecido no mínimo duas vezes em dois artigos diferentes. O tamanho do círculo indica a frequência de ocorrência de cada palavra-chave e as linhas revelam suas conexões. A nuvem criada indica que as palavras-chave mais frequentes foram “*nanoparticles*” e “*Alzheimer’s disease*” o que está de acordo com o intuito da revisão bibliográfica proposta.

A análise com o software VOSviewer selecionou 8 palavras-chave das 48 referências bibliográficas utilizadas, reunidas em 3 grupos, com um total de 18 *links*. Os grupos encontram-se apresentados na Tabela 1, onde mostra-se a ocorrência de cada palavra, a quantidade de *links* e o ano médio de publicação.

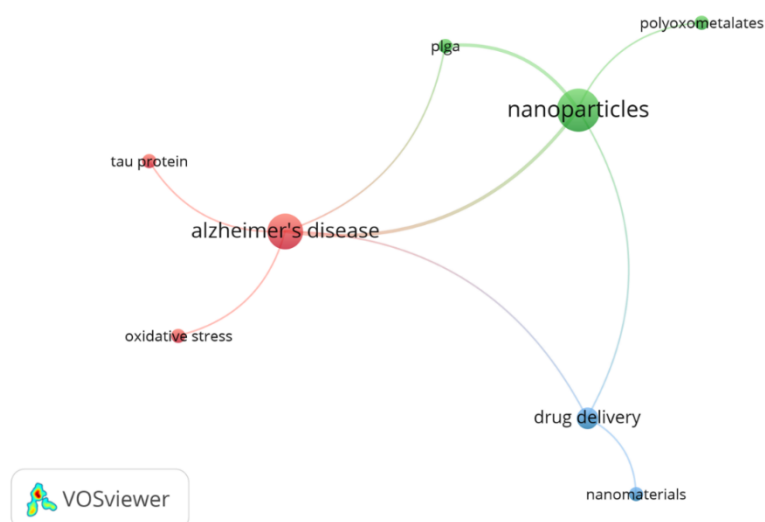


Figura 4 - Mapa das palavras-chave contidas nas fontes bibliográficas utilizadas.

Este artigo de revisão visa apresentar informação relacionada a aplicação das nanopartículas no tratamento da doença de Alzheimer e a informação foi complementada explicando questões relacionadas a toxicidade dessas partículas, ou seja, os possíveis impactos adversos na saúde humana.

Tabela 1 - Grupos das palavras-chave contidas na bibliografia utilizada para este artigo de revisão

Grupo	Palavra-Chave	Ocorrências	Links	Ano médio de publicação
1	<i>Alzheimer's disease</i>	5	5	2018
	<i>Oxidative stress</i>	2	1	2018
	<i>Tau protein</i>	2	1	2018
2	<i>Nanoparticles</i>	6	4	2018
	<i>PLGA</i>	2	2	2017
	<i>Polyoxometalates</i>	2	1	2013
3	<i>Drug delivery</i>	3	3	2019
	<i>Nanomaterials</i>	2	1	2020

2. RESULTADOS

Nanopartículas no tratamento da doença de alzheimer

Uma nova e promissora abordagem para o tratamento da DA reside no desenvolvimento de nanopartículas capazes de atravessar a BHE e atuar diretamente sobre as causas da doença, como na dissolução de placas senis e emaranhados neurofibrilares (Karthivashan *et al.*, 2018).

Até à data, já foram realizados diversos estudos promissores, porém, ainda nenhum foi aprovado para testes em humanos, devido à possibilidade de desencadear efeitos colaterais graves e imprevisíveis (Karthivashan *et al.*, 2018).

2.1. Nanopartículas desenvolvidas

As propriedades físico-químicas das nanopartículas encontram-se intimamente relacionadas com o seu tamanho, forma, material, características da superfície, entre outras, nesse sentido foram desenvolvidas várias formulações (Figura 5), que procuram dar resposta a um problema comum - o tratamento da DA (Sajid & Płotka-Wasyłka, 2020).

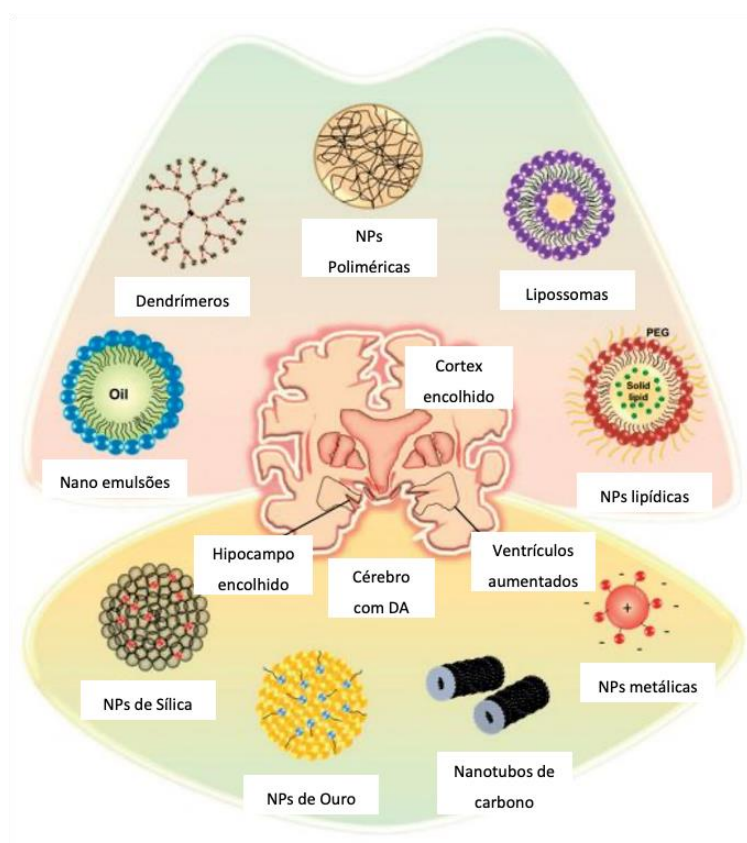


Figura 5 - Tipos de Nanopartículas desenvolvidas para o tratamento da DA. Adaptado de Karthivashan *et al.*, 2018.

2.1.1. Nanopartículas inorgânicas e orgânicas

Estudos demonstraram que nanopartículas de PLGA carregadas com fator de crescimento vascular endotelial (VEGF-NS) foram capazes de reduzir a deposição do peptídeo β -amilóide, com consequente diminuição na perda de neurônios e anomalias cerebrais vasculares (Baranowska-Wójcik & Szwajgier, 2020; Herrán *et al.*, 2013; Menon *et al.*, 2012). Na Figura 6 encontra-se as micrografias dadas pela Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) de um exemplo deste tipo de nanopartículas.

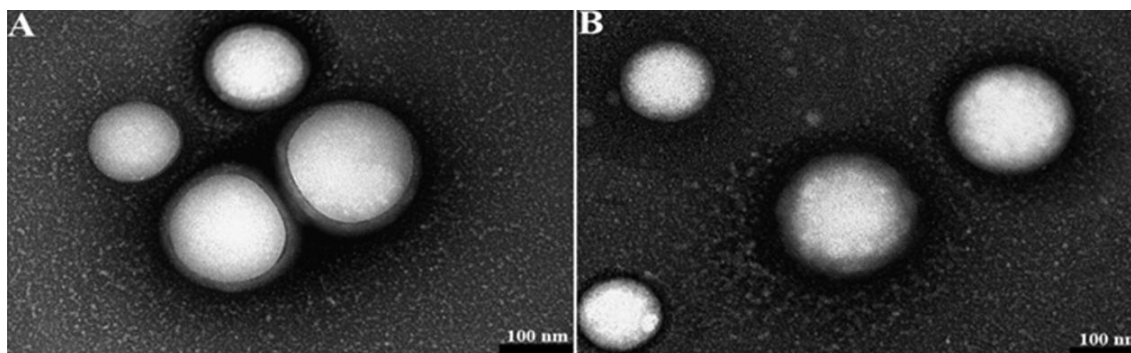


Figura 6 - Imagens de MET representam a morfologia de (A) PLGA-PVA (~157 nm) e (B) PLGA-PF127 NPs (~150 nm). Ambos os NPs são esféricos em forma com uma camada externa fraca característica de NPs feita por dupla emulsão. Adaptado de Menon *et al.*, 2012.

2.1.2. Nanopartículas de Iões Metálicos

O estudo efetuado sobre o efeito de nanopartículas de óxido de zinco (ZnONPs) (Figura 7) na inibição da formação de produtos finais de glicólise avançada (AGEs), associadas ao desenvolvimento da DA, mostrou que as ZnONPs atuam como um forte antioxidante capaz de inibir a formação de AGEs, protegendo a estrutura proteica, podendo ser promissoras na prevenção ou reversão de patologias primárias do sistema nervoso central (Ashraf *et al.*, 2018; Baranowska-Wójcik & Szwajgier, 2020).

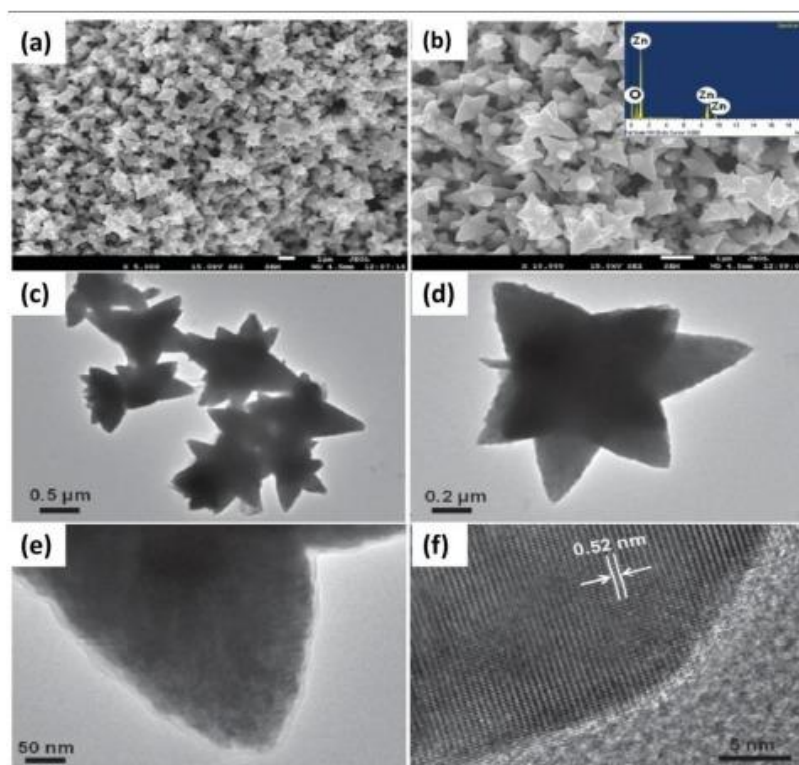


Figura 7 - Imagens MET de nanopartículas de óxido de zinco. Adaptado de Kumar *et al.*, 2017.

2.1.3. Nanolipossomas

Estudos efetuados sobre o efeito de nanolipossomas (Figura 8) sobre a agregação de peptídeos de β -amilóide (1-42), mostraram que os nanolipossomas contendo curcumina ou derivados inibem a formação de $A\beta$ fibroso e oligomérico *in vitro*, o que é importante no tratamento da doença de Alzheimer (Baranowska-Wójcik & Szwajgier, 2020; Taylor *et al.*, 2011).

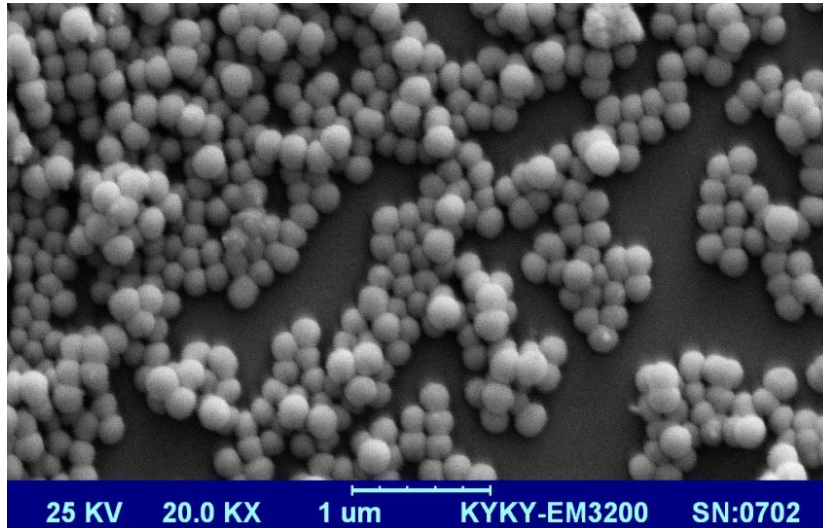


Figura 8: Imagem MET de Nanolipossomas. Adaptado de Arabi *et al.*, 2017.

No que diz respeito ao efeito destes nanomateriais verificou-se ainda que os nanolipossomas formados a partir de um peptídeo originado do domínio de ligação ao recetor da apolipoproteína E (APOE), são capazes de atravessar a BHE. Após injeção de nanolipossomas funcionais em ratos transgênicos APOE/presenilina 1, ocorreu a inibição da formação e desagregação de sistemas $A\beta$ *in vitro*. Ainda neste estudo, os investigadores constataram que a coroa de polietilenoglicol (PEG) de nanopartículas poliméricas de longa circulação (NPs) é capaz de reter $A\beta$ tóxico, tanto em solução como no soro sanguíneo (Balducci *et al.*, 2014; Baranowska-Wójcik & Szwajgier, 2020).

2.1.4. Polímeros biodegradáveis

A combinação de Polietilenoglicol (PEG), Solanumtuberosumlectina (STL), polilactídeo poliglicólico (PLGA) (Figura 8) para a formação de uma nanopartícula, carregada com fator de crescimento de fibroblasto básico resultou num tratamento notável para DA. Neste estudo, a via de administração das NPs foi intranasal, permitindo a administração de uma maior quantidade de fármacos em comparação com a administração feita por via intravenosa (Arya *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019).

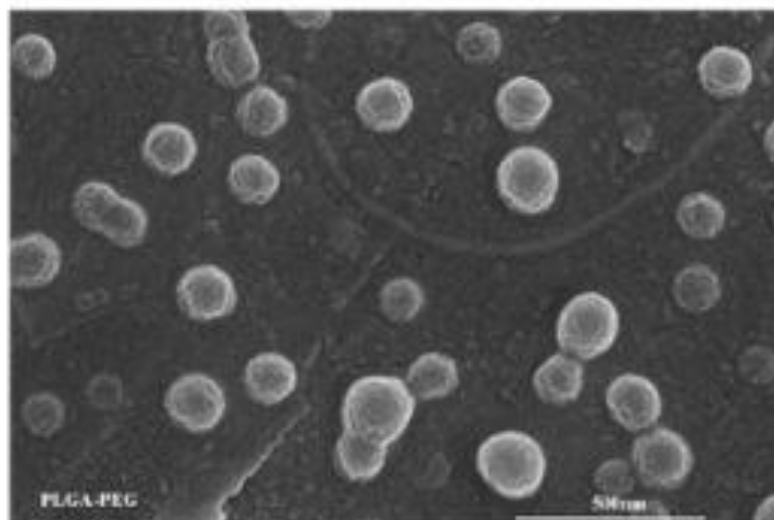


Figura 9 - Imagem de MET de NPs de PEG e PLGA. Adaptado de Yang *et al.*, 2021.

2.1.5. Nanogéis

Os nanogéis auto-organizados (NGs) (Figura 10) carregados com Curcumina (Cur-HA NGs) podem inibir a agregação de A β e a citotoxicidade. Os resultados mostraram que a taxa de inibição foi 69% e o teste de citotoxicidade mostrou que as células SH SY5Y incubadas com A β e Cur-HA NGs tiveram uma inibição 28% maior taxa do que a mistura de A β e ácido hialurônico (HA). Espera-se que este inibidor possa ser utilizado para desenvolver agentes eficazes contra a agregação de A β e citotoxicidade (Y. Li *et al.*, 2014; Zeng *et al.*, 2021).

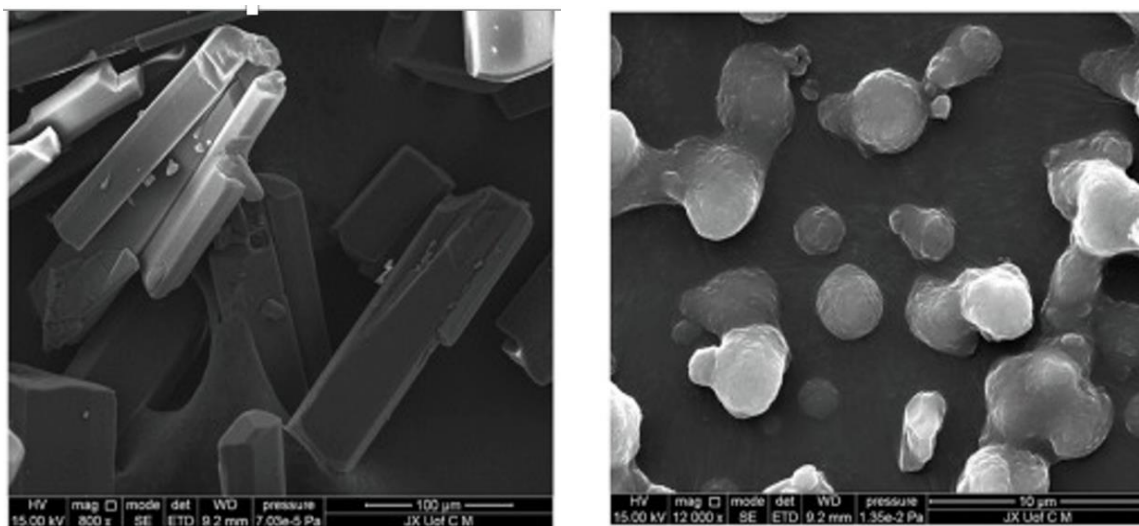


Figura 10 - Imagens MET de um nanogel com harmina. Adaptado de Huang *et al.*, 2021.

2.1.6. Nanocompósitos

O nanocompósito esférico NC-KLVFF consiste numa encapsulação de albumina de soro bovino (BSA) numa camada de polímero contendo KLVFF reticulado sintetizado por polimerização *in situ*. Os resultados mostram que o NC-KLVFF é capaz de se combinar com monómeros A β para formar o agregado A β /NC-KLVFF (Figura 11), evitando assim a formação de fibras e mitigando os danos neuronais induzidos pela deposição do peptídeo A β , com consequente redução da inflamação e restaurando a capacidade fagocítica da microglia intracraniana (Zeng *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2019).

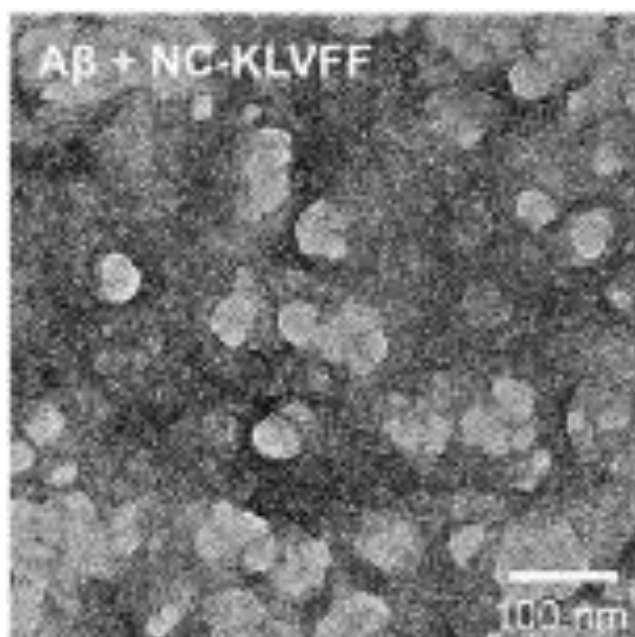


Figura 11 - Imagem MET de NPs NC-KLVFF incubadas com oligómeros A β . Adaptado de Zhao *et al.*, 2019.

2.2. Técnicas mais promissoras

De entre as técnicas analisadas, as que mais se realçam são aquelas que têm como alvo terapêutico os monómeros Aβ e a hiperfosforilação da proteína tau. Além disso, as melhores técnicas são aquelas que garantem que as nanopartículas são capazes de atravessar a BHE, atingir o seu alvo terapêutico, bem como garantir que estas partículas não induzem efeitos tóxicos no organismo.

Atualmente, as nanopartículas mais utilizadas no desenvolvimento de novas terapias para a DA assentam em iões metálicos, como o ouro, e polímeros biodegradáveis, como o PLGA.

2.2.1. Nanopartículas de ouro

Estudos efetuados mostram que o Polioxometalato (POM) de fórmula molecular $K_8(P_2CoW_{17}O_{61})$ ($4534,95 \text{ g mol}^{-1}$) é capaz de inibir a formação de agregados do peptídeo β-amiloide (Aβ), sendo que os POMs com a estrutura Wells-Dawson (POMD) exibem o melhor efeito inibitório (Geng *et al.*, 2011).

Vários péptidos que atuam como inibidores da β-sheet mostram-se muito eficientes na prevenção da fibrilogénese, de entre os quais se destaca o péptido LPFFD.

Assim, a combinação do POMD e LPFFD possui uma maior capacidade de ligação e de redução dos efeitos tóxicos do Aβ. Para conjugar os dois, os autores utilizaram nanopartículas de ouro (AuNPs) como caroço, originando as partículas AuNPs@POMD-pep. As partículas de ouro permitem ainda a passagem eficaz pela BHE (Pramanik *et al.*, 2011).

A morfologia das AuNPs@POMD-pep foi analisada por Microscopia Eletrónica de Transmissão (MET) (Figura 11). O tamanho das partículas é de cerca de 21,7 nm e são formadas por um caroço de ouro, revestido por aniões POMD, com cerca de 1,35 nm de espessura. A avaliação do potencial zeta das partículas mostrou que estas não se combinariam facilmente com a maioria das proteínas presentes no sangue, devido à sua carga negativa.

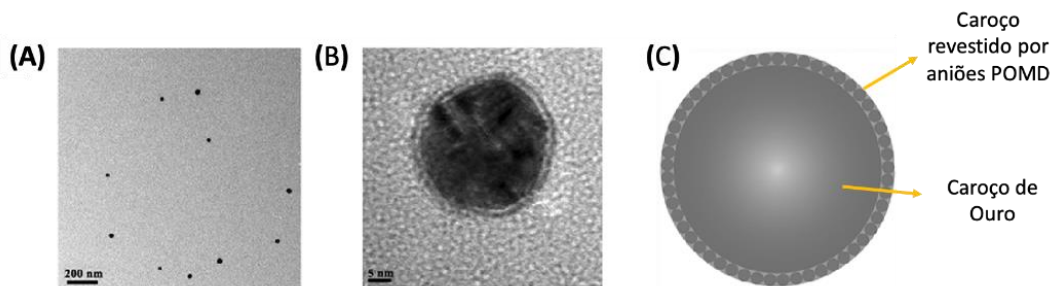


Figura 11 - Imagens MET das nanopartículas de ouro (A e B) e sua representação esquemática (C). Adaptado de N. Gao *et al.*, 2015.

Segundo o trabalho desenvolvido por N. Gao *et al.* (2015) para avaliar a agregação de Aβ em fibrilhas, utilizou-se Tioflavina T, cuja fluorescência aumenta exponencialmente quando ligada a agregados amiloides. Na presença das AuNPs@POMD-pep, a fluorescência sofreu uma redução de 47%, provando a sua capacidade em inibir a formação de fibrilhas. Também foi comprovada a eficácia das AuNPs@POMD-pep na dissolução de agregações Aβ pré-existentes e verificou-se uma redução de cerca de 37% da capacidade de fluorescência após a adição das nanopartículas (Figura 12).

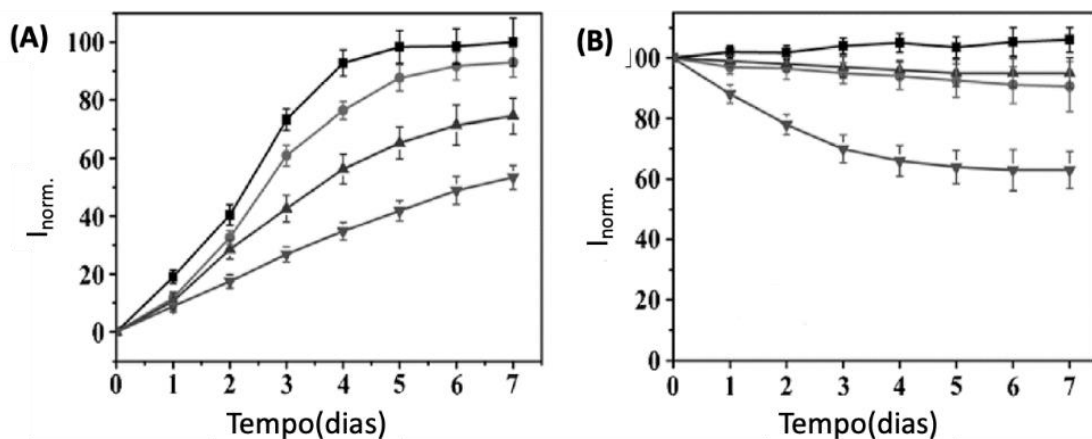


Figura 12 - Variação da intensidade normalizada em função do tempo durante a inibição (A) e desagregação (B) de agregados de Aβ. Adaptado de N. Gao *et al.*, 2015.

Por forma a avaliar os efeitos das AuNPs@POMD-pep na redução da citotoxicidade provocada pelos aglomerados A β , utilizaram-se células não tratadas, com fibrilhas A β , como controlo positivo. A viabilidade celular das do grupo tratado com o péptido A β 1-40 foi de 58%, enquanto as células tratadas com AuNPs@POMD-pep apresentaram uma taxa de sobrevivência superior a 90%. Além disso, a adição das AuNPs@POMD-pep mostrou-se não tóxica a diferentes concentrações e tempos de incubação (Figura 13).

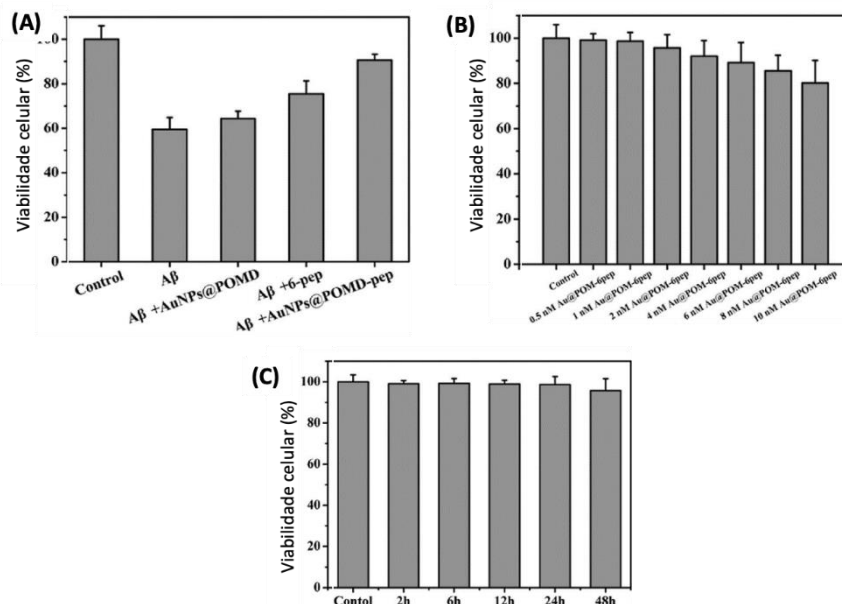


Figura 13 - Efeito da NPs de ouro na viabilidade celular (A), a diferentes concentrações (B) e em diferentes tempos de incubação (C). Adaptado de N. Gao *et al.*, 2015

2.2.2. Nanopartículas de PLGA

O T807 é um agente utilizado na tomografia de emissão de positrões para a imagiologia da DA (Ono *et al.*, 2017). Exibe uma grande afinidade para com as regiões do cérebro que apresentam maior fosforilação da proteína tau. Devido ao seu baixo peso molecular e ao seu coeficiente de partição adequado, o T807 consegue atravessar a BHE e possui uma boa permeabilidade celular. Por este motivo e sendo seguro *in vivo*, tem sido amplamente utilizado no desenvolvimento de novas terapias para a DA, baseadas no mecanismo da hiperfosforilação da proteína tau (Barret *et al.*, 2017).

O revestimento de nanopartículas de PLGA com membranas dos eritrócitos (RBCm) intactas permite desenvolver RBCNPs, que possuem tanto as características físico-químicas de materiais sintéticos como a as funções biológicas complexas de um material endógeno. Uma particularidade importante destas NPs é a sua capacidade de preservar a integridade das RBCm, incluindo a proteína CD47, que é capaz de inibir a fagocitose por parte dos macrófagos.

Projetou-se a síntese de RBCNPs modificadas com DSPE-PEG3400-T807, capazes de atravessar a BHE e direcioná-las especificamente à tau no interior das células neuronais. Estas nanopartículas foram carregadas com Curcumina, que demonstrou ter efeitos positivos na redução da sintomatologia da DA (Figura 13) (C. Gao *et al.*, 2020).

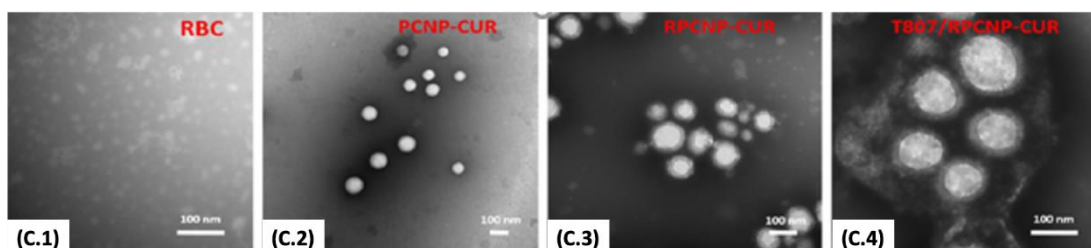


Figura 14 - Representação esquemática da atuação *in vivo* (A) e preparação das NPs de PLGA (B). Imagem MET da aparência morfológica das NPs de eritrócitos (C.1), NPs carregadas com CUR (C.2 e C.3) e PLGA + RBCm + Cur+ T807 (C.4). Adaptado de C. Gao *et al.*, 2020.

A avaliação da estabilidade das T807/RBCNP-CUR em condições fisiológicas, foi efetuada utilizando soro bovino para simular as condições *in vivo*. Este estudo permitiu concluir que não ocorreu a formação de agregações ou sedimentações após 24h, pelo que

as nanopartículas são adequadas para utilização *in vivo*. De forma a avaliar a biossegurança das nanopartículas contendo em PLGA, foram efetuados vários estudos com finalidade de mostrar o seu efeito na viabilidade celular, estes permitiram concluir que não se verificaram alterações significativas relativamente aos grupos de controlo (Lemoine *et al.*, 2017; Marinho *et al.*, 2017).

3. TOXICIDADE DOS NANOMATERIAIS

O desenvolvimento da nanotecnologia tem permitido grandes conquistas em diferentes áreas, incluindo na saúde. Porém, os nanomateriais podem também representar uma ameaça para a saúde, na sua tentativa de a melhorar (Nikolova *et al.*, 2020).

Diversos autores têm tentado avaliar os efeitos tóxicos das nanopartículas inorgânicas em linhas celulares e em modelos animais, porém, os resultados obtidos são contraditórios. A capacidade das nanopartículas provocarem efeitos inflamatórios e oxidativos já foi demonstrada, e sabe-se que esta capacidade pode levar a citotoxicidade e genotoxicidade, com dano à molécula de ADN, perturbação de genes e alterações metabólicas (León-Silva *et al.*, 2018).

O tamanho das partículas está diretamente relacionado com a sua toxicidade, sendo que, em regra geral, quanto menor é o tamanho, maior é a toxicidade. Isto deve-se ao facto de quanto menor for o tamanho de uma partícula, maior é a sua capacidade de penetração nas barreiras biológicas, o que pode resultar na sua acumulação em compartimentos celulares ou órgãos, como o cérebro, onde não é comum ocorrer acumulação de com materiais convencionais (Catalán & Norppa, 2017). Algumas destas nanopartículas são passíveis de se deslocar até outros órgãos, através das correntes sanguínea e linfática, podendo acumular-se e causar danos nos mesmos (Z. Li *et al.*, 2018).

Na nanomedicina é utilizada uma grande variedade de materiais. Os mais frequentes são a prata, o ouro, a platina, a sílica, o carbono e óxidos de zinco e ferro (León-Silva *et al.*, 2018).

Alguns dos estudos referidos ao longo deste trabalho utilizam nanopartículas de ouro como *nanocarriers* (N. Gao *et al.*, 2015), a versatilidade destas partículas potencia a sua utilização em nanomedicina (León-Silva *et al.*, 2018). Porém, enquanto metal pesado, o ouro pode provocar danos no ambiente e na saúde humana. Tanto as nanopartículas de ouro carregadas positivamente como as carregadas negativamente podem causar toxicidade aguda e crónica (Z. Li *et al.*, 2018). A avaliação da toxicidade destas nanopartículas tem sido muito estudada, porém, os resultados obtidos são contraditórios. Ainda assim, muitos autores apontam para a possibilidade das partículas de ouro se alojarem no fígado, e passarem por um processo de eliminação muito longo. Estes estudos provaram ainda que as NPs de ouro desencadeiam a geração contínua, provocando stress oxidativo que acaba por levar à morte das células, geralmente por necrose. Nestas células, verifica-se que os genes pró-inflamatórios se encontram ativos, ao contrário dos genes relacionados com o ciclo celular (Jia *et al.*, 2017).

Vários nanomateriais orgânicos, como o polímero biodegradável PLGA, foram apontados como promissores no que toca à libertação de fármacos localizada, dado serem muito biocompatíveis e apresentam boa biodegradabilidade e baixa citotoxicidade (C. Gao *et al.*, 2020).

A descarga não controlada de nanopartículas no ambiente pode provocar sérios danos nos ecossistemas, tanto em microrganismos, como em animais e plantas (León-Silva *et al.*, 2018; Z. Li *et al.*, 2018). NPs de PLGA afetam a nitrificação e as bactérias nitrificantes essenciais existentes no solo (Nishu *et al.*, 2020).

4. DISCUSSÃO

As NPs de ouro mostram-se capazes de atravessar a BHE, carregando fármacos essenciais para a inibição da agregação dos peptídeos A β , bem como dissolver fibrilhas pré-existentes. À semelhança destas partículas, a grande maioria das possibilidades terapêuticas em estudo baseiam-se na sua atuação sobre a inibição da formação de aglomerados da proteína β -amilóides e a dissolução de fibrilhas pré-formadas. Porém, a grande maioria destes ensaios falharam, colocando a eficácia desta abordagem em causa.

Assim, outra possível abordagem terapêutica é a atuação sobre a hiperfosforilação da proteína tau. NPs constituídas por polímeros biodegradáveis e biocompatíveis, como o PLGA, constituem uma abordagem promissora e segura, tendo sido muito utilizada nestes estudos. A sua associação com agentes farmacológicos ou naturais, como a curcuma, garante-lhes a biocompatibilidade, biodegradabilidade e eficácia necessárias à diminuição dos níveis de tau hiperfosforilada intracelulares, suprimir a apoptose e diminuir o stress oxidativo, aliviando os sintomas da DA, ocorrendo a recuperação de algumas capacidades cognitivas.

Uma característica importante da DA é o aumento da geração de ROS. As partículas de ouro e as partículas de PLGA mostraram-se eficazes na redução do stress oxidativo, bem como aumentaram a taxa de sobrevivência celular.

Os estudos efetuados mostram-se muito promissores no que diz respeito à reversão dos sintomas associados à DA, contrariamente ao que acontece com as terapias atualmente aprovadas, que apenas são capazes de atrasar o desenvolvimento da patologia. As NPs apresentam ainda menos efeitos secundários do que os tratamentos convencionais, permitindo melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Porém, desconhece-se o potencial tóxico destas NPs a longo prazo, dado que os tratamentos devem prolongar-se no tempo, podendo levar à acumulação de metais pesados, como o ouro, no organismo, ou à acumulação de substâncias ativas, como a curcumina no cérebro, não existindo ainda qualquer estudo que permita aferir as consequências destes tratamentos.

Para que exista um avanço mais significativo da utilização segura de nanopartículas na medicina, é necessário que sejam continuamente realizados estudos que avaliem o seu efeito inflamatório e oxidativo. A maioria dos estudos foca-se nos efeitos agudos das nanopartículas, sendo que futuramente é necessário avaliar os riscos associados à exposição prolongada às mesmas. A segurança dos nanomateriais é avaliada tendo por base diretrizes pré-existentes que não são capazes de dar uma resposta concreta e certa dos perigos que podem advir da utilização dos mesmos. Ainda que o desenvolvimento de nanopartículas já venha a ocorrer há mais de 30 anos, o desenvolvimento de métodos e protocolos *standard* necessários para assegurar a biossegurança das mesmas ainda não existem, pelo que é difícil avançar para a aplicação destas terapias em humanos.

CONCLUSÃO

Têm sido estudadas várias abordagens terapêuticas promissoras, no entanto, ainda nenhuma resultou numa terapia aprovada, uma vez que é difícil manter concentrações adequadas de fármaco no espaço intraneuronal. A citotoxicidade de uma nanopartícula tem de ser avaliada, de forma a testar a sua biocompatibilidade. O estabelecimento de doses consideradas tóxicas é um pré-requisito para a aprovação de uma nanopartícula, porém estes valores são muito difíceis de estabelecer, sendo quase impossível prever os efeitos citotóxicos em regiões extra-neuronais, que podem advir da terapia com nanopartículas.

Além disso, num sistema biológico complexo, como é o caso do organismo humano, as interações biológicas, como as respostas imunes e a absorção, e as propriedades físico-químicas das nanopartículas, como o tamanho, a forma, a carga da superfície, a concentração e a estabilidade *in vivo*, têm de ser consideradas para que se possa compreender o seu potencial citotóxico, o que torna a esta análise muito complexa. Porém, as NPs de PLGA não são capazes de atravessar a BHE *per se*, sendo necessário associá-las a agentes capazes de melhorar esta capacidade, de forma que os fármacos possam ser libertados diretamente sobre o alvo, reduzindo os efeitos sistémicos e melhorando a qualidade da terapia.

Corroborando com o referido anteriormente, ainda que exista evidência de que as nanopartículas são capazes de tratar algumas doenças de forma eficiente, as dúvidas sobre a possibilidade de existirem efeitos secundários, que poderão ou não ser mais danosos para o organismo do que a doença que pretendem tratar, inviabilizam ainda a sua utilização.

Apesar da incerteza associada a estes métodos, a verdade é que estes abrem uma nova porta no que toca ao tratamento de doenças do foro neurodegenerativo, permitindo tratar a patologia, revertendo as causas e mitigando os sintomas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arabi, M. H., H., Mirzapour, A., Ardestani, M. S. ee, & Saffari, M. (2017). Preparation of nanoliposomes containing Rosmarinus officinalis L essential oil; A comparative study. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, 10(1), 103–108. <https://doi.org/10.21786/bbrc/10.1/15>
- Arya, M. A., Manoj Kumar, M. K., Sabitha, M., Menon, K. N., & Nair, S. C. (2019). Nanotechnology approaches for enhanced CNS delivery in treating Alzheimer's disease. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 51, 297–309. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.03.022>
- Ashraf, J. M., Ansari, M. A., Fatma, S., Abdullah, S. M. S., Iqbal, J., Madkhali, A., Hamali, A. H., Ahmad, S., Jerah, A., Echeverria, V., Barreto, G. E., & Ashraf, G. M. (2018). Inhibiting Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Advanced Glycation Products and Oxidative Modifications: A Potential Tool to Counteract Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Molecular Neurobiology*, 55(9), 7438–7452. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-0935-x>
- Balducci, C., Mancini, S., Minniti, S., La Vitola, P., Zotti, M., Sancini, G., Mauri, M., Cagnotto, A., Colombo, L., Fiordaliso, F., Grigoli, E., Salmona, M., Snellman, A., Haaparanta-Solin, M., Forloni, G., Masserini, M., & Re, F. (2014). Multifunctional Liposomes Reduce Brain -Amyloid Burden and Ameliorate Memory Impairment in Alzheimer's Disease Mouse Models. *Journal of Neuroscience*, 34(42), 14022–14031. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0284-14.2014>
- Baranowska-Wójcik, E., & Szwajgier, D. (2020). Alzheimer's disease: Review of current nanotechnological therapeutic strategies. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 20(3), 271–279. <https://doi.org/10.1080/14737175.2020.1719069>
- Barbosa, F. O., Assis, G. B., Araújo, L. V., Pinheiro, M. J. da C., Lemos, G. D., Maia, C. S., Assis, T. de O., & Lemos-Jordão, A. J. J. M. (2020). Doença de Alzheimer e o uso de memantina: Uma revisão da literatura. *Brazilian Journal of Health Review*, 3(2), 2415–2425. <https://doi.org/10.34119/bjhrv3n2-091>
- Barret, O., Alagille, D., Sanabria, S., Comley, R. A., Weimer, R. M., Borroni, E., Mintun, M., Seneca, N., Papin, C., Morley, T., Marek, K., Seibyl, J. P., Tamagnan, G. D., & Jennings, D. (2017). Kinetic Modeling of the Tau PET Tracer ¹⁸F-AV-1451 in Human Healthy Volunteers and Alzheimer Disease Subjects. *Journal of Nuclear Medicine*, 58(7), 1124–1131. <https://doi.org/10.2967/jnumed.116.182881>

- Catalán, J., & Norppa, H. (2017). Safety Aspects of Bio-Based Nanomaterials. *Bioengineering*, 4(4), 94. <https://doi.org/10.3390/bioengineering4040094>
- Dunn, B., Stein, P., & Cavazzoni, P. (2021). Approval of Aducanumab for Alzheimer Disease—The FDA’s Perspective. *JAMA Internal Medicine*, 181(10), 1276. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2021.4607>
- Fulop, T., Witkowski, J. M., Bourgade, K., Khalil, A., Zerif, E., Larbi, A., Hirokawa, K., Pawelec, G., Bocti, C., Lacombe, G., Dupuis, G., & Frost, E. H. (2018). Can an Infection Hypothesis Explain the Beta Amyloid Hypothesis of Alzheimer’s Disease? *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10, 224. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00224>
- Gao, C., Chu, X., Gong, W., Zheng, J., Xie, X., Wang, Y., Yang, M., Li, Z., Gao, C., & Yang, Y. (2020). Neuron tau-targeting biomimetic nanoparticles for curcumin delivery to delay progression of Alzheimer’s disease. *Journal of Nanobiotechnology*, 18(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s12951-020-00626-1>
- Gao, N., Sun, H., Dong, K., Ren, J., & Qu, X. (2015). Gold-Nanoparticle-Based Multifunctional Amyloid- β Inhibitor against Alzheimer’s Disease. *Chemistry - A European Journal*, 21(2), 829–835. <https://doi.org/10.1002/chem.201404562>
- Geng, J., Li, M., Ren, J., Wang, E., & Qu, X. (2011). Polyoxometalates as Inhibitors of the Aggregation of Amyloid β Peptides Associated with Alzheimer’s Disease. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(18), 4184–4188. <https://doi.org/10.1002/anie.201007067>
- Hampel, H., Mesulam, M.-M., Cuello, A. C., Farlow, M. R., Giacobini, E., Grossberg, G. T., Khachaturian, A. S., Vergallo, A., Cavado, E., Snyder, P. J., & Khachaturian, Z. S. (2018a). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer’s disease. *Brain*, 141(7), 1917–1933. <https://doi.org/10.1093/brain/awy132>
- Hampel, H., Mesulam, M.-M., Cuello, A. C., Khachaturian, A. S., Vergallo, A., Farlow, M. R., Snyder, P. J., Giacobini, E., & Khachaturian, Z. S. (2018b). Revisiting the Cholinergic Hypothesis in Alzheimer’s Disease: Emerging Evidence from Translational and Clinical Research. *The Journal Of Prevention of Alzheimer’s Disease*, 1–14. <https://doi.org/10.14283/jpad.2018.43>
- Herrán, E., Pérez-González, R., Igartua, M., Pedraz, J. L., Carro, E., & Hernández, R. M. (2013). VEGF-releasing biodegradable nanospheres administered by craniotomy: A novel therapeutic approach in the APP/Ps1 mouse model of Alzheimer’s disease. *Journal of Controlled Release*, 170(1), 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.04.028>
- Hock, F. J., & Gralinski, M. R. (Eds.). (2020). *Drug Discovery and Evaluation: Methods in Clinical Pharmacology*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-68864-0>
- Huang, G., Xie, J., Shuai, S., Wei, S., Chen, Y., Guan, Z., Zheng, Q., Yue, P., & Wang, C. (2021). Nose-to-brain delivery of drug nanocrystals by using Ca²⁺ responsive deacetylated gellan gum based in situ-nanogel. *International Journal of Pharmaceutics*, 594, 120182. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120182>
- Jia, Y.-P., Ma, B.-Y., Wei, X.-W., & Qian, Z.-Y. (2017). The in vitro and in vivo toxicity of gold nanoparticles. *Chinese Chemical Letters*, 28(4), 691–702. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2017.01.021>
- Karthivashan, G., Ganesan, P., Park, S.-Y., Kim, J.-S., & Choi, D.-K. (2018). Therapeutic strategies and nano-drug delivery applications in management of ageing Alzheimer’s disease. *Drug Delivery*, 25(1), 307–320. <https://doi.org/10.1080/10717544.2018.1428243>
- Kumar, R., Umar, A., Kumar, G., & Nalwa, H. S. (2017). Antimicrobial properties of ZnO nanomaterials: A review. *Ceramics International*, 43(5), 3940–3961. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.12.062>
- Lemoine, L., Gillberg, P.-G., Svedberg, M., Stepanov, V., Jia, Z., Huang, J., Nag, S., Tian, H., Ghetti, B., Okamura, N., Higuchi, M., Halldin, C., & Nordberg, A. (2017). Comparative binding properties of the tau PET tracers THK5117, THK5351, PBB3, and T807 in postmortem Alzheimer brains. *Alzheimer’s Research & Therapy*, 9(1), 96. <https://doi.org/10.1186/s13195-017-0325-z>
- León-Silva, S., Fernández-Luqueño, F., & López-Valdez, F. (2018). Engineered Nanoparticles: Are They an Inestimable Achievement or a Health and Environmental Concern? Em F. López-Valdez & F. Fernández-Luqueño (Eds.), *Agricultural Nanobiotechnology* (pp. 183–212). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96719-6_10
- Li, A., Tyson, J., Patel, S., Patel, M., Katakam, S., Mao, X., & He, W. (2021). Emerging Nanotechnology for Treatment of Alzheimer’s and Parkinson’s Disease. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 672594. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.672594>
- Li, Y., Cheng, Q., Jiang, Q., Huang, Y., Liu, H., Zhao, Y., Cao, W., Ma, G., Dai, F., Liang, X., Liang, Z., & Zhang, X. (2014). Enhanced endosomal/lysosomal escape by distearoyl phosphoethanolamine-polycarboxybetaine lipid for systemic delivery of siRNA. *Journal of Controlled Release*, 176, 104–114. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.12.007>

- Li, Z., Cong, H., Yan, Z., Liu, A., & Yu, B. (2018). The Potential Human Health and Environmental Issues of Nanomaterials. Em *Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications* (pp. 1049–1054). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813351-4.00060-2>
- Ling, T. S., Chandrasegaran, S., Xuan, L. Z., Suan, T. L., Elaine, E., Nathan, D. V., Chai, Y. H., Gunasekaran, B., & Salvamani, S. (2021). The Potential Benefits of Nanotechnology in Treating Alzheimer's Disease. *BioMed Research International*, 2021, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2021/5550938>
- Ma, R., Zhang, Y., Hong, X., Zhang, J., Wang, J.-Z., & Liu, G. (2017). Role of microtubule-associated protein tau phosphorylation in Alzheimer's disease. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*, 37(3), 307–312. <https://doi.org/10.1007/s11596-017-1732-x>
- Marinho, K. S. N., Antonio, E. A., Silva, C. V. N. S., Silva, K. T. D., Teixeira, V. W., Aguiar Junior, F. C. A. D., Santos, K. R. P. D., Silva, N. H. D., & Santos, N. P. S. (2017). Hepatic toxicity caused by PLGA-microspheres containing usnic acid from the lichen *Cladonia substellata* (AHTI) during pregnancy in Wistar rats. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 89(2), 1073–1084. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160650>
- Menghani, Y. R., Bhattad, D. M., Chandak, K. K., Taksande, J. R., & Umekar, M. J. (2021). A Review: Pharmacological and herbal remedies in The Management of Neurodegenerative disorder (Alzheimer's). *International Journal of Pharmacognosy and Life Science*, 2(1), 18–27. <https://doi.org/10.33545/27072827.2021.v2.i1a.23>
- Menon, J. U., Kona, S., Wadajkar, A. S., Desai, F., Vadla, A., & Nguyen, K. T. (2012). Effects of surfactants on the properties of PLGA nanoparticles. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 100A(8), 1998–2005. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34040>
- Nikolova, M., Slavchov, R., & Nikolova, G. (2020). Nanotechnology in Medicine. Em F. J. Hock & M. R. Gralinski (Eds.), *Drug Discovery and Evaluation: Methods in Clinical Pharmacology* (pp. 533–546). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-68864-0_45
- Nishu, S. D., Park, S., Ji, Y., Han, I., Key, J., & Lee, T. K. (2020). The effect of engineered PLGA nanoparticles on nitrifying bacteria in the soil environment. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 84, 297–304. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2020.01.011>
- Organization for Economic Cooperation and Development. (2017). *Health at a Glance 2017: OECD Indicators*. OECD. https://doi.org/10.1787/health_glance-2017-en
- Ono, M., Sahara, N., Kumata, K., Ji, B., Ni, R., Koga, S., Dickson, D. W., Trojanowski, J. Q., Lee, V. M.-Y., Yoshida, M., Hozumi, I., Yoshiyama, Y., van Swieten, J. C., Nordberg, A., Suhara, T., Zhang, M.-R., & Higuchi, M. (2017). Distinct binding of PET ligands PBB3 and AV-1451 to tau fibril strains in neurodegenerative tauopathies. *Brain*, 140(3), 768–780. <https://doi.org/10.1093/brain/aww339>
- Pramanik, D., Ghosh, C., & Dey, S. G. (2011). Heme–Cu Bound A β Peptides: Spectroscopic Characterization, Reactivity, and Relevance to Alzheimer's Disease. *Journal of the American Chemical Society*, 133(39), 15545–15552. <https://doi.org/10.1021/ja204628b>
- Sajid, M., & Płotka-Wasyłka, J. (2020). Nanoparticles: Synthesis, characteristics, and applications in analytical and other sciences. *Microchemical Journal*, 154, 104623. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104623>
- Sharma, N., Tramutola, A., Lanzillotta, C., Arena, A., Blarzino, C., Cassano, T., Butterfield, D. A., Di Domenico, F., Perluigi, M., & Barone, E. (2019). Loss of biliverdin reductase-A favors Tau hyper-phosphorylation in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*, 125, 176–189. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.02.003>
- Sousa, B. M. (2017). *Abordagem Terapêutica na Doença de Alzheimer* (Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade do Algarve). <http://hdl.handle.net/10400.1/10408>
- Taylor, M., Moore, S., Mourtas, S., Niarakis, A., Re, F., Zona, C., Ferla, B. L., Nicotra, F., Masserini, M., Antimisiaris, S. G., Gregori, M., & Allsop, D. (2011). Effect of curcumin-associated and lipid ligand-functionalized nanoliposomes on aggregation of the Alzheimer's A β peptide. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 7(5), 541–550. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.06.015>
- Vaz, M., & Silvestre, S. (2020). Alzheimer's disease: Recent treatment strategies. *European Journal of Pharmacology*, 887, 173554. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173554>
- Walsh, S., Merrick, R., Milne, R., & Brayne, C. (2021). Aducanumab for Alzheimer's disease? *BMJ*, 374, n1682. <https://doi.org/10.1136/bmj.n1682>

- Yang, M., Jin, L., Wu, Z., Xie, Y., Zhang, P., Wang, Q., Yan, S., Chen, B., Liang, H., Naman, C. B., Zhang, J., He, S., Yan, X., Zhao, L., & Cui, W. (2021). PLGA-PEG Nanoparticles Facilitate In Vivo Anti-Alzheimer's Effects of Fucoxanthin, a Marine Carotenoid Derived from Edible Brown Algae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(34), 9764–9777. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c00569>
- Yiannopoulou, K. G., & Papageorgiou, S. G. (2020). Current and future treatments in Alzheimer disease: An update. *Journal of Central Nervous System Disease*, 12, 1-12. <https://doi.org/10.1177/1179573520907397>
- Zeng, H., Qi, Y., Zhang, Z., Liu, C., Peng, W., & Zhang, Y. (2021). Nanomaterials toward the treatment of Alzheimer's disease: Recent advances and future trends. *Chinese Chemical Letters*, 32(6), 1857–1868. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2021.01.014>
- Zhao, Y., Cai, J., Liu, Z., Li, Y., Zheng, C., Zheng, Y., Chen, Q., Chen, H., Ma, F., An, Y., Xiao, L., Jiang, C., Shi, L., Kang, C., & Liu, Y. (2019). Nanocomposites inhibit the formation, mitigate the neurotoxicity, and facilitate the removal of β -Amyloid Aggregates in Alzheimer's disease mice. *Nano Letters*, 19(2), 674–683. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.8b03644>
- Zhang, L., Zhao, P., Yue, C., Jin, Z., Liu, Q., Du, X., & He, Q. (2019). Sustained release of bioactive hydrogen by Pd hydride nanoparticles overcomes Alzheimer's disease. *Biomaterials*, 197, 393-404. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.01.037>