

Títol del treball:

**Efectes del resveratrol sobre la malaltia d'Alzheimer
per la millora dels nivells de proteïna beta amiloide i els
de fosforilació de proteïna tau**

Estudiant: Maria del Mar Villar Cecilia

Grau en Biologia

Correu electrònic: Cecilia.vmm@gmail.com

Tutor: Elisabet Kadar Garcia

Empresa / institució: Universitat de Girona

Vistiplau tutor (i cotutor*):

Nom del tutor: Elisabet Kadar Garcia

Empresa / institució: Universitat de Girona

Correu(s) electrònic(s): elisabet.kadar@udg.edu

*si hi ha un cotutor
assignat

Data de dipòsit de la memòria a secretaria de coordinació: 19/07/2018

Resum

L' Alzheimer (AD) és la causa més comuna de demència (representa entre un 60 i un 70 % de tots els casos d'aquesta patologia) i un dels motius més freqüents de dependència i mortalitat en la gent gran. La pèrdua progressiva de la memòria i les funcions cognitives en són les principals característiques. Tot i que la comunitat científica hi ha mostrat molt interès i s'han realitzat molts estudis, encara no s'ha trobat cap teràpia efectiva. En relació a la teoria amiloide, la teoria més recolzada pels investigadors en els últims anys, la causa més lligada a l'AD és l'acumulació i deposició de la proteïna β -amiloide ($A\beta$) al sistema nerviós central amb l'edat. A mida que va augmentant aquesta acumulació, es promou que es donin altres mecanismes patogènics complexos que agreugen la malaltia, com són: l'increment de fosforilació de tau, l'estrès oxidatiu, la disfunció mitocondrial i la inflamació en el sistema nerviós, donant en última instància, la disfunció del sistema nerviós central i la mort neuronal. Per altre banda, en els últims anys, hi ha molts estudis tant *in vitro* com *in vivo* que demostren el potencial que té el resveratrol, un polifenol present en el vi i altres plantes, per millorar moltes d'aquestes disfuncions que es comentaven associades a l'AD. Concretament aquest treball, s'ha centrat en fer una revisió bibliogràfica del potencial del resveratrol per pal·liar o eliminar els dos factors més distintius de l'AD en relació a altres malalties: l'acumulació de la proteïna $A\beta$ i la hiperfosforilació de la proteïna de tau. En base a això, s'han descrit els diferents mecanismes moleculars més recolzats pels diferents estudis *in vitro* i *in vivo* que s'han dut a terme i s'ha contextualitzat la investigació d'aquest fàrmac. La diversitat en els protocols i la pobre biodisponibilitat que ofereix el resveratrol en els estudis *in vivo*, sembla ser el major obstacle per l'eficàcia que podria tenir el medicament. D'aquesta manera, cal continuar en la cerca de quin podria ser el correcte subministrament del fàrmac, per tal d'aconseguir traslladar els beneficis que s'han obtingut en molts assajos, en humans.

Abstract

Alzheimer disease (AD) is the most common cause of dementia (representing 60-70% of all cases of this pathology) and an increasingly common cause of dependence and mortality in the elderly. Progressive loss of memory and cognitive functions are the major features of AD. Although the scientific community has shown a lot of interest and many studies have been carried out, no effective therapy has been discovered yet. According to the amyloid hypothesis, the most probable cause of AD is the progressive accumulation and deposition of amyloid in the central nervous system due to aging. As this accumulation is increasing, other complex pathogenic mechanisms that aggravate the illness are promoted, such as: the increase in tau phosphorylation, oxidative stress, mitochondrial dysfunction and inflammation in the nervous system, causing, ultimately, a dysfunction of the central nervous system and the neuronal death. On the other hand, in recent years, there are many studies *in vitro* and *in vivo* that demonstrate the potential of resveratrol, a polyphenol present in wine and other plants, to improve many of these dysfunctions that were mentioned associated with the AD. Specifically, this work has focused on making a bibliographic review of the potential of resveratrol to alleviate or eliminate the two most distinctive factors of AD in relation to other diseases: the accumulation of A β protein and the hyperphosphorylation of tau protein. Hence, it has described the different molecular mechanisms most supported by the different *in vitro* and *in vivo* studies that have been carried out and the research of this drug has been contextualized. The diversity in protocols and poor bioavailability offered by resveratrol in the studies *in vivo* seems to be the main obstacle to the efficacy of the drug. Therefore, further studies are needed to determine what is the best way of supplying the drug, in order to transfer the benefits that have been obtained in many tests, in humans.

Resumen

El Alzheimer (AD) es la causa más común de demencia (representa entre un 60 y un 70% de todos los casos de esta patología) y uno de los motivos más frecuentes de dependencia y mortalidad en los ancianos. La pérdida progresiva de la memoria y las funciones cognitivas son las principales características. Aunque la comunidad científica ha mostrado mucho interés y se han realizado muchos estudios, todavía no se ha encontrado ninguna terapia efectiva. En relación a la teoría amiloide, la teoría más apoyada por los investigadores en los últimos años, la causa más ligada a la AD es la acumulación y deposición de la proteína β -amiloide ($A\beta$) en el sistema nervioso central con la edad. A medida que va aumentando esta acumulación, se promueve que se den otros mecanismos patogénicos complejos que agravan la enfermedad, como son: el incremento de fosforilación de tau, el estrés oxidativo, la disfunción mitocondrial y la inflamación en el sistema nervioso, dando en última instancia, la disfunción del sistema nervioso central y la muerte neuronal. Por otro lado, en los últimos años, hay muchos estudios tanto *in vitro* como *in vivo* que demuestran el potencial que tiene el resveratrol, un polifenol presente en el vino y otras plantas, para mejorar muchas de estas disfunciones que se comentaban asociadas a la AD. Concretamente este trabajo, se ha centrado en hacer una revisión bibliográfica del potencial del resveratrol para paliar o eliminar los dos factores más distintivos de la AD en relación a otras enfermedades: la acumulación de la proteína $A\beta$ y la hiperfosforilación de la proteína de tau. En base a esto, se han descrito los diferentes mecanismos moleculares más apoyados por los diferentes estudios *in vitro* e *in vivo* que se han llevado a cabo y se ha contextualizado la investigación de este fármaco. La diversidad en los protocolos y la pobre biodisponibilidad que ofrece el resveratrol en los estudios *in vivo*, parece ser el mayor obstáculo para la eficacia que podría tener el medicamento. De este modo, hay que continuar en la búsqueda de cuál podría ser el correcto suministro del fármaco, para conseguir trasladar los beneficios que se han obtenido en muchos ensayos, en humanos.

Índex

1. Introducció	1
1.1 L'Alzheimer	1
1.1.2 Mecanismes del desenvolupament de l'Alzheimer. Hipòtesis Amiloide	1
1.2. El resveratrol	4
1.2.1 El resveratrol i l'Alzheimer	5
1.3. Les sirtuïnes	5
2. Objectives	7
3. Material i mètodes	8
4. Criteris ètics o de sostenibilitat del treball	9
5. Resultats i discussió	10
5.1 Eliminació de la proteïna β -amiloide	10
5.2 Reducció dels nivells de tau hiperfosforilada	16
5.3 Limitacions del resveratrol i futures direccions del fàrmac	18
6. Conclusions	22
7. Bibliografia	23

1.INTRODUCCIÓ

1.1 L'Alzheimer

L'AD és una malaltia neurodegenerativa i la causa més comú de demència al món (afecta entre un 5 i un 10% de la població mundial més gran de 65 anys) (Qiu, Kivipelto, i von Strauss, 2009). Pel que fa a la simptomatologia, destaquen la pèrdua progressiva de la memòria a curt i a llarg termini amb un empitjorament en la cognició. Així doncs, es van presentant una sèrie de dificultats en la rutina diària i les relacions socials que desemboquen finalment en una dependència absoluta del pacient en el seu dia a dia (Caruana, Cauchi i Vassallo, 2016). Pel que fa als principis que desencadenen la malaltia, a dia d'avui encara hi ha molt debat i sembla ser que l'estil de vida hi juga un paper molt important. Però per altre banda, hi ha una sèrie de factors de risc que augmenten considerablement la predisposició a patir la malaltia com són: l'edat avançada, la història familiar clínica amb AD i ser portador de l'al·lel APOE4 (Sawda, Moussa i Turner, 2017).

Tot i que els factors patològics i la progressió de la malaltia continua sent estudiada, les principals característiques associades a la malaltia són: les plaques senils (SP), els cabdells neurofibril·lars (NFT), i finalment pèrdua de connexions sinàptiques i mort neuronal (Kou i Chen, 2017). D'entre totes elles però, la característica més associada a l'inici de la progressió de la malaltia són les SP. El conjunt de totes aquestes anomalies promouen que hi hagi més factors que potencien encara més el desenvolupament de la malaltia com són: disfuncions dels neurotransmissors i dels mitocondris, estrès oxidatiu, inflamació i trastorns neuroimmunes i tròfics.

Clínicament s'han aplicat molts fàrmacs per tal de millorar el símptomes de l'AD, com serien els inhibidors de la colinesterasa o la mamantina. Però la gran quantitat d'efectes adversos en comparació als pocs beneficis que aporten (Ma, Tan, Yu i tan, 2014), fa necessari continuar amb la cerca de nous fàrmacs que intentin millorar l'AD des dels múltiples mecanismes que el caracteritzen.

1.1.2 Mecanismes del desenvolupament de l'Alzheimer. Hipòtesis amiloide

La hipòtesis patogènica de la malaltia mes recolzada pels especialistes és la hipòtesis amiloide.

Aquesta hipòtesis es va postular el 1992 (Ma *et al.*, 2014), i rau en el mal clivatge de la proteïna precursora de l'amiloide (APP). Quan es dona aquest clivatge anòmal, actuen unes secretases específiques, les β - i γ -secretases, donant lloc a un acumulament progressiu del pèptid β -amiloide ($A\beta$), a l'espai extracel·lular en el còrtex i en l'hipocamp. De manera normal, l'APP és fragmentada per l' α -secretasa, mitjançant la via coneguda com a via no amiloide (Figura 1), generant pèptids α -amiloides, que són solubles i no generen disfuncions. Però quan es dona el procés anòmal (formació de l' $A\beta$) (Figura 1), aquesta al ser insoluble, tendeix a acumular-se en agregats, donant lloc a la formació d' oligòmers d' $A\beta$, fibres d'amiloide i finalment plaques senils (SP) (Figura 2) (Sawda, *et al.*, 2017; Ma *et al.*, 2014).

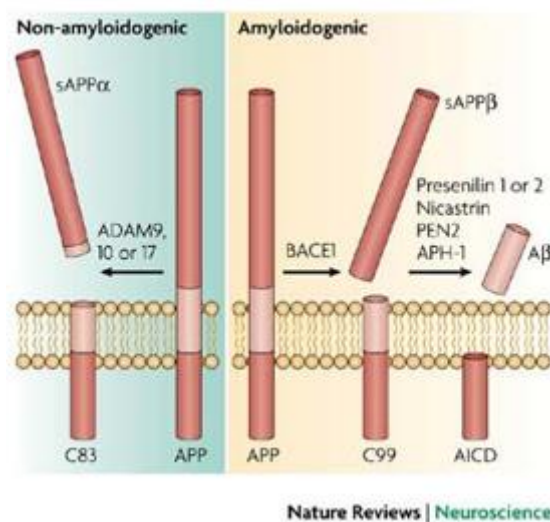


Figura 1. Escissió no amiloide (esquerra) i escissió amiloide (dreta) (Mockett, Richter, Abraham, & Müller, 2017).

Per altre banda, hi ha un altre procés que es veu fortament afectat i involucrat en el desenvolupament de l'AD: la formació de cabdells neurofibril·lars (NFT) (Figura 3) a l'interior de les neurones. Aquestes NFT, es donen degut a una hiperfosforilació o una fosforilació anormal de la proteïna Tau, degut a l'increment de l'activitat de certes quinases (Kou i Chen, 2017). Les proteïnes Tau són proteïnes que majoritàriament es troben en neurones tant del sistema nerviós central com del perifèric i s'associen a

microtúbuls per tal d'estabilitzar-los (Ma *et al.*, 2014). Les NFT de per si, tenen tendència a augmentar amb l'edat en pacients d'AD, però sembla ser que la presència de l' A β , encara promou més la seva formació. Tenint en compte que tant la formació de les SP, com les NFT malmeten les neurones i donen lloc a necrosis i apoptosi neuronal, i que acabaran donant lloc a altres processos patològics relacionats amb la malaltia (pèrdua sinàptica i neuronal, gliosis i neuroinflamació), aquests dos processos resulten una característica patològica primordial per a l'estudi de la malaltia d'Alzheimer (Sawda *et al.*, 2017).

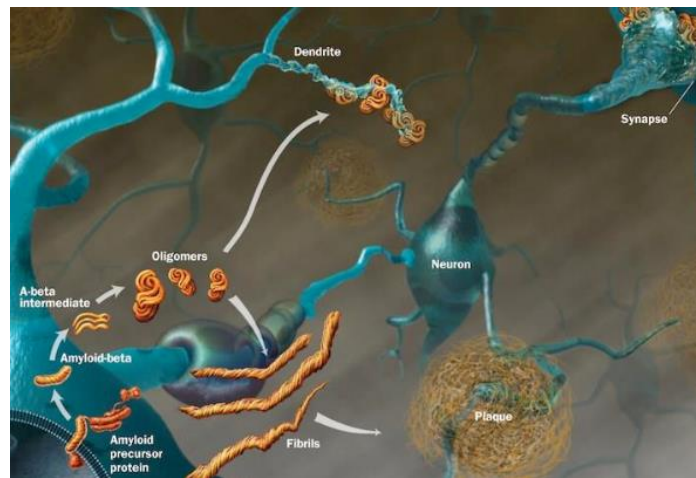


Figura 2. Formació de plaques senils a partir del procés anòmal d'escissió de l'APP ("alzheimers7801.jpg(Imatge JPEG,780+596píxels)-Escalat (98%)," n.d).

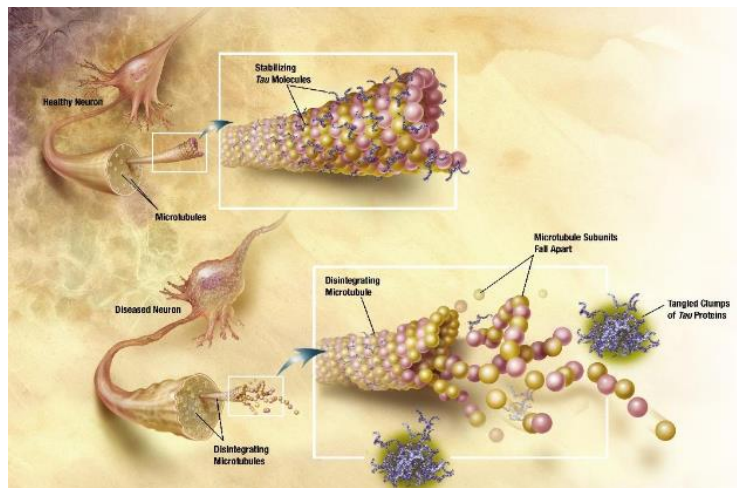


Figura 3: Procés d'estabilització de microtúbuls per part de proteïnes TAU (a dalt); i procés anòmal, portant a la desintegració dels microtúbuls (a baix) (Fändrich, Schmidt i Grigorieff, 2011).

1.2. El resveratrol

El resveratrol (3,4', 5- trihidroxistilbene) (Figura 4) és un polifenol que es troba en diverses plantes, especialment en la pell i llavors del raïm i per tant també en el vi. També es troba en fruites del bosc i en cacauets, entre d'altres, però en menor abundància i el que fa és exercir una funció protectora, per exemple contra fongs i bacteris. (Berman, Motechin, Wiesenfeld, i Holz, 2017; Ma *et al.*, 2014; Marques, Markus i Morris, 2009).

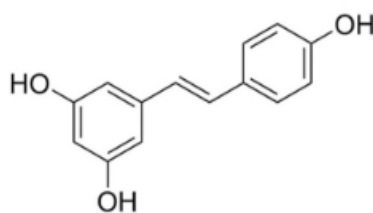


Figura 4: Fórmula estructural de la molècula de resveratrol (Catalgol, Batriel, Taga i Ozer, 2012).

Aquestes plantes que el contenen i els respectius extractes, han estat molt utilitzats com agents terapèutics en múltiples malalties des de temps ancestrals, però el resveratrol per ell mateix no va ser aïllat i descrit fins el 1940 com a component medicinal. Concretament es va trobar en la planta *Veratrum grandiflorum*. Tot i així, no ha estat fins fa pocs anys cap aquí que s'ha començat a estudiar el potencial farmacològic que presenta davant diferents malalties entre les que s'inclouen el càncer, malalties cardiovasculars, la diabetis i la obesitat (Berman *et al.*, 2017; Marques *et al.*, 2009) i desordres neurològics com el Parkinson i l'AD.

El resveratrol està associat a varis efectes antioxidants, antiinflamatoris, anticarcinògens, antienvelliment i propietats de neuroprotecció (Lange i Li, 2018). Es coneix que el resveratrol té capacitat per modular un gran nombre de dianes intracel·lulars entre les quals, les més conegudes són les sirtuïnes. Però també té activitat sobre un gran nombre de factors de la transcripció, proteïnes quinases, gens apoptòtics, pot suprimir productes de gens metastàtics i angiogènics i

biomarcadors inflamatoris. També pot induir alguns enzims antioxidants (Marques *et al.*, 2009). L'efecte neuroprotector del resveratrol està molt relacionat amb les propietats antiinflamatòries i antioxidants, tot i així, encara no es coneix completament el mecanisme exacte pel qual s'arriba a aquest resultat (Lange i Li, 2018).

1.2.1 Resveratrol i Alzheimer

Seguint amb les propietats de neuroprotecció, s'ha observat que el resveratrol, té un paper molt rellevant en l'AD. Investigacions recents suggereixen que podria protegir les neurones de l'hipocamp contra l'A β , contra la mort neuronal induïda per l'estrès oxidatiu i propiciar la neurogènesi (Figura5). Uns altres mecanismes d'acció del resveratrol potencials per a l'AD inclouen: la reducció de ROS, l'eliminació de pèptids A β , la facilitació del clivatge d'APP per part de l' α -secretasa (per tal de no formar A β), la inhibició de la β -secretasa (BACE-1), la millora de disfuncions mitocondrials i, la reducció de la toxicitat induïda per l'hiperfosforilació de tau (Figura5). Tots ells promoguts per l'activació de les sirtuïnes, concretament de SIRT 1 (Lange i Li, 2018) (Figura5).

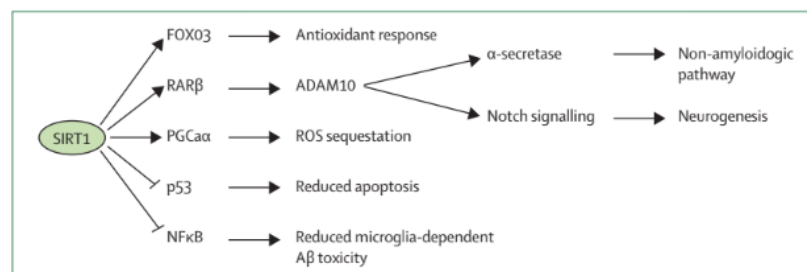


Figura 5: Activació de SIRT 1, la derivada desacetilació de diferents proteïnes i conseqüent resposta protectora cel·lular (Bonda *et al.*, 2011).

1.3.Les sirtuïnes:

Les sirtuïnes són un tipus de proteïnes histones que principalment tenen activitat desacetilasa dependents de nicotinamida adenina dinucleòtid (NAD⁺). D'aquesta manera, a nivell molecular, s'aconsegueix un enrotllament de les histones més fort a l'ADN i conseqüentment això desemboca en una regulació de la transcripció del DNA i la proteïna en qüestió (Bonda *et al.*, 2011).. Concretament les sirtuïnes, reben especial atenció en malalties associades a l'envelliment, ja que s'ha trobat que

poden regular molts gens i mecanismes implicats en el metabolisme energètic, com per exemple davant de situacions de restricció calòrica i dejunis (Jayeasena *et al.*, 2013).

En mamífers, se'n coneixen 7 i es troben distribuïdes de manera diferent en la cèl·lula. Totes elles tenen el domini catalític conservat, però difereixen en el domini N i C-terminal. Tenen diferents substrats, entre els quals s'inclouen histones, regions transcripcionals i diferents enzims relacionats en moltes funcions, i per tant també, i en relació a l'interès d'aquest treball, en l'aprenentatge i la memòria.

	Cell localisation	Activity	Key targets
SIRT1	Nucleus	Deacetylase	p53, FOXO3, RAR β , PGC1 α , PPAR γ , NF κ B, IGF1, histone H1, H3, H4
SIRT2	Cytoplasm	Deacetylase	Histone H4, α -tubulin
SIRT3	Mitochondria	Deacetylase and ART	Ku70, acetyl-coA synthetase, glutamate dehydrogenase, isocitrate dehydrogenase
SIRT4	Mitochondria	ART	Glutamate dehydrogenase
SIRT5	Mitochondria	Deacetylase	Cytochrome c
SIRT6	Nucleus	Deacetylase and ART	Histone H3
SIRT7	Nucleus	Possible deacetylase	Possibly the RNA PolI complex

ART=ADP-ribosyltransferase activity. Adapted from Albani and colleagues,¹² with permission from IOS Press.

Table 1: Biochemical and functional features of human sirtuins

Figura 5: Sirtuïnes en humans i les seves corresponents activitats i funcions bioquímiques (Bonda *et al.*, 2011).

Entre els mecanismes més rellevants de les sirtuïnes en relació a l'AD, es troba la capacitat de SIRT 1 per: activar l' α -secretasa, induir la desacetil·lació de tau i, promoure la disminució de quantitat d' A β en el sistema nerviós central (Sawda *et al.*, 2017). També té capacitats neuroprotectores i millora la supervivència neuronal (Kou i Chein, 2017).

2. OBJECTIVES

The main objective of this project has been to make an exhaustive bibliographic review to alleviate or eliminate the two most distinctive factors of AD by resveratrol: the accumulation of A β protein and the hyperphosphorylation of tau protein.

In order to achieve this main objective, the following specific objectives have been established:

- To review the bibliography selected to explain the two main molecular pathways of AD
- To explain the main molecular pathways by which resveratrol decreases the accumulation of A β deposition and tau phosphorylation.
- To analyse some of the main *in vitro* and *in vivo* studies that have been done in order to compare the results for the decrease of the accumulation of A β deposition and tau phosphorylation by resveratrol.
- To assess the current state of the research of resveratrol in AD.

3. MATERIAL I MÈTODES

Per a realitzar aquest treball s'ha fet servir dos cercadors: PubMed per a la cerca més especialitzada, i Google scholar per a la més general.

La primera fase de recerca especialitzada es va dur a terme entre els mesos de novembre de 2017 i abril del 2018. Per tal de saber de quanta informació es podia disposar en un primer moment, es va fer una cerca sense filtres amb les paraules “resveratrol” i “Alzheimer” i es van obtenir un total de 159 articles. A continuació, donat que hi havia força articles, es va voler acotar la cerca a estudis en humans, i es va posar com a filtre aquesta restricció, obtenint-se un total de 26 articles. Però molts d'ells tampoc tractaven sobre recerques en humans.

Donada la complexitat del contingut, finalment es va decidir revisar articles que fossin revisions bibliogràfiques. A més, per tal de fer una cerca més rigorosa es van buscar els Medical Subject Headings (MeSH) de les dues paraules “resveratrol” i “Alzheimer”, i es van obtenir aquests termes: RES, RSV, Alzheimer's disease i Alzheimer disease. A partir d'aquí es van realitzar diferents cerques combinant els diferents termes i es van acotar a estudis que fossin publicats els últims 10 anys, amb preferència per els més recents. A continuació es van llegir els diferents resums de tots els articles i se'n van escollir un total de 7. De tota manera, a partir de la bibliografia continguda en aquests primers articles que va facilitar Pubmed, es va ampliar el nombre d'articles principals, fins que se'n van aconseguir un total de 12.

Així doncs els criteris d'inclusió en general van ser:

- Data de publicació entre l'any 2008 i 2018, revisions bibliogràfiques i llengua anglesa i castellana.

I els d'exclusió:

- Articles que no compleixen els criteris d'inclusió i articles duplicats.

Finalment, a partir de la informació que van proporcionar aquests 12 articles més generals, es va decidir realitzar una segona cerca més especialitzada sobre els mecanismes pels quals el resveratrol redueix els dos factors més característics de l'AD: la disminució de la proteïna A β i la hiperfosforilació de la proteïna tau.

4. CRITERIS ÈTICS O DE SOSTENIBILITAT DEL TREBALL

En les diferents investigacions per a l'avenç farmacològic per a l'AD, resulta inevitable l'ús d'animals. Però la consciència i el valor d'aquests des de la perspectiva humana, són dos criteris ètics importants i inqüestionables. És per això, que existeixen una sèrie de mesures de legislació per tal de regular el tracte d'aquests en els diferents procediments científics que els facin servir. Aquestes han de vetllar per la seva màxima seguretat dins del context, des de la cria i transport inicials, fins al seu sacrifici.

Per altre banda, el poc desenvolupament farmacològic eficaç que hi ha actualment, força a que els diferents assajos clínics a realitzar tinguin una mica més de risc pels individus que en assajos d' altres fàrmacs per malalties experimentalment més conegudes. És per això, que cal que tots aquests assajos clínics es facin sota la màxima seguretat i informant al màxim dels riscos als participants.

Pel que fa a la sostenibilitat, és important, com passa en la resta d'estudis al laboratori, l'ús adequat dels diferents productes, tenint en compte que a l'hora d'escollir-los aquests generin el mínim impacte ambiental en relació a la resta de possibilitats. Així com el correcte reciclatge dels diferents residus generats.

5. RESULTATS I DISCUSSIÓ

L'AD sembla ser una malaltia multifactorial, però encara no està prou clar quin és l'ordre i importància d'aquests factors per tal que s'acabi desenvolupant. Tot i així, la majoria d'autors coincideixen en que els principis més associats a la malaltia són: la formació de plaques senils i la hiperfosforilació de la proteïna tau. Així doncs, aquesta cerca bibliogràfica, pretén inferir sobretot en els efectes del resveratrol per tal de pal·liar o eliminar la formació d'aquests dos elements.

Consten molts estudis que descriuen els efectes del resveratrol sobre la proteïna A β , però no tants sobre la proteïna tau. No obstant, els diferents autors estan d'acord en que encara falta molta informació i evidències per tal d'assegurar la manera concreta com es desenvolupen els fets, tant en un aspecte com en l'altre. És per això que s'ha decidit classificar les diferents recerques que s'han anat trobant segons els diferents models pels quals han estat efectuades (*in vitro* i *in vivo*: en animals i en humans), per tal que després es puguin extreure conclusions pel que fa a l'evolució de la investigació del resveratrol sobre aquests dos mecanismes en l'AD.

Eliminació de la proteïna A β :

En la nostra cerca s'han obtingut un total de 12 articles (majoritàriament revisions bibliogràfiques), els quals ens han permès arribar a 10 articles més concrets per a l'actuació del resveratrol sobre l'eliminació de l' A β . D'aquesta manera, en el cas que un mateix mecanisme estigui recolzat per més d'un model, s'explicarà a partir dels models més rellevants i procurant que siguin el més recents possibles, majoritàriament inclosos en els articles dels quals s'ha partit la cerca.

- Estudis in vitro

Regulació de l'autofàgia

Entre les diferents revisions bibliogràfiques consultades, una de les vies més comentades pel que fa a l'eliminació de proteïna A β mitjançant estudis *in vitro* és l'autofàgia.

La presència d'agregats proteics anormals en el citoplasma o en el nucli, i les incusions extracel·lulars, com serien per exemple les plaques senils i els cabdells neurofibril·lars, perjudiquen els orgànuls i creen disfuncions sinàptiques en el sistema nerviós. Així doncs els procés d'eliminació A β mediat per l'autofàgia té un paper crucial en la millora del desenvolupament de la malaltia d'AD. I d'entre les diferents maneres que hi ha per regular aquest sistema, el resveratrol n'és un molt bon fàrmac (Pallau i Rimbach, 2013).

En l'estudi de Gosh, McBurney, i Robbins (2010) es van fer servir cèl·lules HeLa i es va demostrar que el resveratrol té capacitat per reduir la ruta de la diana de rapamicina en cèl·lules de mamífer (mTOR) a partir de SIRT1. I això, està directament relacionat amb l'autofàgia perquè mTOR és capaç de modular-la, concretament n'és un inhibidor.

Per altre banda, en la recerca de Morselli et al., (2011) es va comparar la capacitat i mecanismes pels quals l'espermidina (una poliamina que es troba en els cítrics i la soja) i el resveratrol induïen l'autofàgia, tant individualment com sinèrgicament. Pel que fa al resveratrol per si sol, es van fer servir diferents cultius de cèl·lules de mamífers i es va concloure que era capaç d'induir l'autofàgia a través de diferents maneres, tant dependent com independent de sirtuïnes.

Així doncs, tot i que el rol precís del resveratrol en la millora d'aquesta via és encara poc clar, es suposa que l'activació de SIRT1 hi juga un paper molt important (Figura 7) (Kou i Chen, 2017).

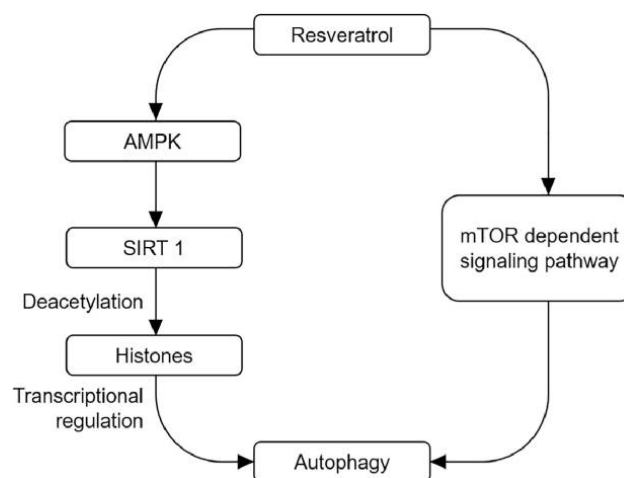


Figura 7: Rutes d'activació de l'autofàgia a través del resveratrol (Kou i Chen, 2017).

Inhibició de l'enzim β -secretasa (BACE-1)

Més recentment, també s'ha demostrat en varis assajos *in vitro* que BACE-1 també juga un paper molt important pel que fa als mecanismes beneficiosos que aporta el resveratrol en l'AD. Això és així perquè, com s'ha comentat a la introducció, BACE-1 és l'enzim principal en el procés de formació de proteïna A β , així doncs, la seva inhibició serà d'una importància primordial per tal d'evitar la formació de plaques senils.

Entre els estudis més destacats trobem els de Choi et al. (2011) i Koukoulista et al. (2016):

En l'estudi de Choi et al. (2011) es va estudiar la capacitat inhibidora de BACE-1 de 9 oligòmers del resveratrol que es van aconseguir a partir llavors de *Paeonia lactiflora*. Per fer-ho, es van fer servir baculovirus purificats com a vectors per expressar BACE-1 sobre el substrat Rh-EVNLDAEFK. Posteriorment, a aquestes recombinants, se'ls va aplicar diferents dosis de cada un d'aquests oligòmers per separat. I, a continuació, mitjançant transferència d'energia de ressonància de Förster (FRET), es va poder estimar la dosi concreta de cada oligòmer per tal de reduir l'activitat de l'enzim en un 50%. D'aquesta manera es va demostrar que hi havia oligòmers de resveratrol més i menys afins a provocar la inhibició de BACE1.

Pel que fa a l'estudi de Koukoulista et al. (2016) es va investigar el mateix efecte però sobre 11 anàlegs del resveratrol mitjançant un assaig tipus *Time resolved fluorometry* (TRF). En un primer moment es va demostrar que 4 d'aquests 11 anàlegs tenien una activitat considerablement alta mitjançant *docking* i *MD calculations*. I després, això es va acabar de confirmar sobre cèl·lules HT22. A més a més, 3 d'aquests 4 anàlegs, mostraven una activitat encara més potent degut a que presentaven més lipofilitat, la qual cosa suggereix que la lipofilitat és important per a la bioactivitat del resveratrol per inhibir BACE-1.

Activació de la proteïna quinasa activada per AMP (AMPK)

SIRT-1, com es comentava en el mecanisme de l'autofàgia, és coneguda per ser una de les molècules principals pel que fa a l'activació de diferents mecanismes per reduir la deposició d' A β . A més, per posar un altre exemple, també es considera que SIRT 1 participa en la inhibició de BACE-1 (Sawda et al., 2018). Però alguns autors han volgut

anar més lluny i estudiar la implicació d'altres molècules en aquests mecanismes. Com es va fer en els estudis que van realitzar Dasgupta i Milbrandt, (2007) i Vingtdeux et al., (2010). Així, en l'assaig de Dasgupta i Milbrandt, (2007) es va voler comprovar si AMPK depenia de l'activitat de SIRT1 induïda pel resveratrol. Per fer-ho es va fer servir la línia cel·lular de neuroblastoma (Neuro2a) amb inhibidors químics de sirtuines. Es va posar una dosi de 10 μ M de resveratrol i al cap de 2 hores es va comprovar que els inhibidors no havien tingut cap efecte sobre la capacitat del resveratrol per estimular el creixement en aquestes cèl·lules. Així doncs es va comprovar que AMPK era activada pel resveratrol de manera independent de SIRT1.

Seguint aquestes evidències, Vingtdeux et al. (2010), van demostrar més tard que si s'inhibia AMPK, el resveratrol no presentava beneficis. Primerament van comprovar la capacitat d'AMPK per reduir els nivells de proteïna A β mitjançant l'aplicació de resveratrol en neurones primàries provinents de ratolins transgènics. I després, sobre el mateix tipus de cèl·lules tractades també amb resveratrol i un inhibidor químic per a AMPK, que aquesta no podia fer-ho.

Així doncs, s'evidencia que AMPK és imprescindible per a que el resveratrol sigui efectiu en la disminució de la proteïna A β , i que existeixen varies vies més per les quals es pot activar a part de a partir de SIRT1.

- Estudis *in vivo*

A diferència dels estudis *in vitro*, el nombre d'estudis *in vivo* és molt més reduït, sobretot en models de mamífers.

Tot i així sí que està confirmada la reducció de proteïna A β , com es va fer en l'estudi de Zhao et al. (2012). En aquest cas es van fer servir rates femelles Wistar de 4 i 5 mesos ovariectomitzades, tractades amb D-galactosa i amb estradiol i resveratrol en diferents dosis. Per l'administració del resveratrol van haver-hi tres grups diferents, unes que rebien 20 mg/kg, unes altres que rebien 40 mg/kg i les que rebien 80 mg/kg; totes elles van fer el tractament durant 12 setmanes. En comparació als altres grups, els resultats van demostrar que les rates que havien rebut dosis de 40 mg/kg i 80 mg/kg de resveratrol, mostraven una disminució significativa de proteïna A β a l'hipocamp en comparació als altres grups. En aquest estudi a més, també es va posar de manifest

l'efectivitat del resveratrol per promoure altres mecanismes que milloren la inflamació induïda per la proteïna A β i la protecció de la barrera hematoencefàlica (tots dos factors involucrats en el desenvolupament l'AD).

Activació de la proteïna quinasa activada per AMP (AMPK)

Seguint amb la recerca anterior que es va fer *in vitro*, Vingtdoux et al., (2010) van voler continuar estudiant els efectes del resveratrol sobre l'activació d'AMPK. En aquest cas es van fer servir ratolins transgènics APP/PS1 de 15 setmanes, i se'ls va administrar durant 15 dies una dieta en la qual un 0,35% era resveratrol; aproximadament això equivaldria a uns 350 mg de resveratrol per quilo de pes de l'animal. En finalitzar l'estudi es va concloure que hi havia hagut un increment de l'activitat d'AMPK significativa en els ratolins que havien rebut tractament respecte els que no, i que aquests també havien tingut una reducció significativa de proteïna A β en el còrtex, però no en l'hipocamp. També es van analitzar els nivells d'APP, però aquests van resultar invariable entre els dos grups.

Regulació de l'autofàgia

Per la via de l'autofàgia no s'ha trobat cap model en mamífers que comprovi els efectes beneficiosos del resveratrol, però sí que se n'ha trobat sobre invertebrats, com per exemple:

En l'estudi de Regitz et al., (2016), es va fer servir models de *Caenorhabditis elegans* transgènics per a l'expressió de proteïna A β . Concretament se'ls va provocar que aquesta expressió estigués sota el control d'un promotor de teixit muscular, de manera que l'animal respongués a la toxicitat induïda per l'acumulació de proteïna A β amb paràlisi. Per comprovar la capacitat del resveratrol per regular l'autofàgia, es van fer servir substrats peptídics fluorogènics. Finalment es va poder confirmar aquesta afecte.

Inhibició de l'enzim β -secretasa (BACE-1)

Com passa en el mecanisme de l'autofàgia, la inhibició de BACE1 també sembla ser més complicada de demostrar en el model *in vivo* respecte el *in vitro*. Com passa en l'experiment que va dur a terme Sánchez (2017) per a la realització de la seva tesi:

En aquest estudi es van fer servir ratolins SAMP8 en que s'analitzava l'expressió gènica de BACE-1. En aquest cas, es van agafar individus de 5 a 7 mesos. Els de 5 representaven un estat mig en el desenvolupament de la malaltia, i els de 7 un estat més avançat. El grup al qual se li administrava resveratrol rebia una dosi diària de 160 mg/Kg. En el cas dels ratolins de 5 mesos, la dieta amb resveratrol es va iniciar quan l'animal tenia 1 mes d'edat i va durar 4 mesos. En canvi, en els ratolins de 7 mesos, se'ls va començar a administrar el resveratrol a partir dels 4 mesos d'edat i van dur a terme la dieta durant 3 mesos.

Pel que fa als resultats, en el cas dels ratolins de 5 mesos, sí que es va observar que els ratolins que havien rebut tractament presentaven una disminució en l'expressió de BACE-1 en comparació als no tractats, però aquests resultats no eren estadísticament significatius. En el cas dels ratolins de 7 mesos, en canvi, hi va haver un augment d'expressió de BACE-1 en els ratolins que se'ls havia administrat el medicament (Sánchez, 2017). Tot i que a priori, aquests resultats en els ratolins de 7 mesos mostren que el resveratrol induïx a l'expressió de BACE-1, en realitat això podria ser indicatiu de la importància que té la fase de la malaltia en que s'administri el medicament, com ja s'ha comentat en molts altres estudis (Sawda et al., 2018). La diferència d'expressió de BACE-1 que es troba associada a l'edat, per altre banda, ve donada pel mecanisme de compensació que ja es dona de manera natural en individus que no se'ls ha administrat resveratrol, en que l'augment de dipòsits de proteïna A β degut a l'edat, provoca que hi hagi menys expressió de BACE-1 (Sánchez, 2017).

Estudis en Humans

Hi ha molt poca informació sobre els efectes del resveratrol en humans, i encara més si s'acota a estudis per a l'AD i la disminució de proteïna A β . Això és així, no només pel poc nombre d'estudis que s'han dut a terme, sinó també pels protocols utilitzats. La quantitat de dosi administrada en els estudis en humans és molt inferior a la que s'administrava en ratolins i, a més, la llargada d'aquests assajos també és molt més curta (la majoria no han durat més de 6 mesos). A part en aquests estudis, bàsicament s'ha valorat la funció cognitiva, que tot i que està íntimament relacionada amb la disminució de l' A β , no ho avala de manera directa.

L'estudi més important que s'ha realitzat en humans i que ens proporciona informació molt determinant per aquesta revisió bibliogràfica, és l'estudi que van realitzar Turner et al., (2015). És l'assaig de més llarga durada (52 setmanes), amb més individus (119) i en que s'ha subministrat les quantitats de resveratrol més altes de la bibliografia analitzada (arribant a 2g/dia en els últims dies) per administració oral. Els individus inclosos en aquest estudi, eren pacients amb AD que presentaven demència de lleu a moderada. Els resultats que es van obtenir, en relació a la proteïna A β , van ser que els nivells d'aquesta disminuïen considerablement en el líquid cefaloraquídi i plasma en el grup placebo, però que en canvi es mantenien estables en el grup que se'ls havia administrat resveratrol (Turner et al., 2015). Així doncs, el grup d'individus que va ser tractat amb resveratrol, van tenir una major eliminació de proteïna A β en comparació al grup placebo.

Reducció dels nivells de tau hiperfosforil·lada

L'efecte del resveratrol en la disminució de proteïna tau anòmala està molt menys estudiada que la disminució de l'acumulació de proteïna A β . Els 12 articles dels quals es va partir la cerca, han permès arribar a molt pocs articles referents als beneficis del resveratrol sobre la proteïna tau. Tenint en compte que la majoria estudiaven el mateix (disminució de quinases que promouen la hiperfosforil·lació de tau), s'ha decidit escollir només aquells més rellevants: els que han estat citats més vegades i els que aporten informació relativament diversa. A més, com en el cas anterior, si un mateix mecanisme està recolzat per més d'un model, s'explicarà a partir del model més informatiu.

In vitro

- Desacetilació de la proteïna tau

Min et al. (2011) van estudiar que l'acetilació de tau inhibeix la seva degradació i contribueix a les taupaties. Aquesta acetilació va ser induïda tant en el model *in vitro* com el *in vivo*, però en el model *in vitro* a més, també van estudiar la desacetilació provocada pel resveratrol. Per fer-ho, es van tractar amb diferents dosis de resveratrol cèl·lules HEH293T transfectades amb proteïna tau, SIRT1, Ha-UB (per a la ubiquitinació) i SIRT1H363Y. Els resultats van mostrar que hi havia ubiquitinació en les cèl·lules que

havien estat transfectades amb SIRT1 i tau en dosis de 50 μ M de resveratrol, per la qual cosa es va concloure que el resveratrol activa SIRT-1 i que SIRT-1 desacetila tau, la qual cosa provoca la seva ubiquitinació i conseqüent eliminació proteosomal, de manera que es redueixen els nivells de tau.

In vivo

- Regulació de la fosforilació anormal de la proteïna tau:

A partir de l'estudi que van realitzar *Porquet et al.* (2013), es va poder observar *in vivo* que el resveratrol pot induir tant a la disminució de la quantitat de proteïna tau fosforil·lada, així com a la disminució de quinases implicades en la hiperfosforil·lació. En aquest experiment es van utilitzar ratolins SAMP8 en que se'ls va administrar resveratrol en quantitats de 1gram/kg a partir dels 2 mesos d'edat durant 7 mesos. Els resultats que es van obtenir pel que fa a les proteïnes tau fosforilades, van ser que els ratolins que havien rebut tractament van presentar nivells més baixos de la proteïna, tant en el còrtex com en l'hipocamp. Per altre banda, en el còrtex, també es va trobar una disminució en l'activitat d'algunes quinases implicades en la fosforilació anormal de tau com són: CDK5 i GSK3 β . Pel que fa a l'hipocamp però, això no es va observar. I es va argumentar que o bé ja no es podien detectar els anticossos fosforilats (que serveixen com a detectors de l'activitat inhibidora de les quinases, o bé recolzant-se més sobre aquesta opció, que la disminució dels nivells de proteïna tau fosforil·lada en l'hipocamp van ser deguts als efectes antioxidants del resveratrol, més que per l'efecte inhibitori de les tau quinases (*Porquet et al.*, 2013).

En contradicció a aquest estudi però, l'assaig que van dur a terme *Chang et al.* (2012), es va voler comparar els efectes dels resveratrol i un derivat seu, el pterostilbene, sobre ratolins SAMP8. Concretament, es van estudiar els efectes d'aquests dos polifenols sobre diferents mecanismes per pal·liar l'estrés oxidatiu, la inflamació i alguns biomarcadors indicatius de l'alteració per l'AD, entre ells la fosforilació de tau. I els resultats van mostrar que la majoria d'ells el resveratrol no tenia efecte, però en canvi el pterostilbene sí. Concretament es van fer servir ratolins SAMP8 de 5 mesos d'edat i se'ls va administrar amb la dieta la mateixa dosi de 120 mg/kg de resveratrol i pterostilbene (el que equivaldria a una dosi inclosa en 2 copes de vi) en cada cas durant

8 setmanes. Pel que fa a l'avaluació cognitiva, els dos models van presentar una millora significativa, però referent a la disminució de la fosforilació de tau, això només es va observar en els ratolins que se'ls havia administrat pterostilbene.

En comparació a l'estudi que es va fer un any després dut a terme per Porquet *et al.* (2013), podria ser que aquesta divergència de resultats sigui deguda a la diferència de protocol que es va fer en cada cas. Així doncs, mentre el pterostilbene es afectiu en dosis baixes, el resveratrol necessita ser administrat en més quantitat i durant més temps i a poder ser sobre individus joves.

Estudis en Humans

Pel que fa als estudis en humans, aquesta activitat, tot i que s'ha estudiat, no s'ha pogut demostrar. Com va passar en l'estudi que ja s'ha comentat anteriorment que van realitzar Turner *et al.* (2015). En aquesta recerca es va calcular si hi havia diferències en els nivells de proteïna tau fosforil·lada en el líquid cefaloraquídi entre el grup que se li havia administrat resveratrol i el grup placebo, i no se'n van trobar.

Limitacions del resveratrol i futures direccions del fàrmac:

Tot i la millora que sembla presentar el resveratrol sobre l'acumulació de la proteïna A β i la hiperfosforil·lació de la proteïna tau, tots els autors dels treballs revisats coincideixen en que encara falta dur a terme molts assajos per tal de poder arribar a la conclusió que els resveratrol és un bon fàrmac per millorar l'AD en humans. Algunes de les limitacions més importants s'han pogut veure reflectides al llarg d'aquesta revisió bibliogràfica:

Divergències en els protocols

En comparació a la resta d'estudis realitzats *in vivo* que s'han comentat, tant el de Chang *et al.*, (2011) com en el de Sánchez (2017), s'han realitzat uns protocols bastant semblants. L'administració del resveratrol es donava de forma oral en dosis baixes (120 mg/kg i 160 mg/kg respectivament) i el tractament durava també relativament poc (2 i 4 mesos). L'edat de l'inici del tractament era una mica diferent però, mentre en l'estudi de Chang *et al.*, (2011) era als 5 mesos, en el cas de Sánchez (2017) era a l'1 i 4 mesos. En tots dos casos però, en contrast als altres, els guanys han estat nuls o no prou

concloents. Tot i així, els ratolins en que se'ls començava a medicar al mes d'edat, presentaven certa millora, però no era estadísticament significativa.

Per altre banda, en els estudis de Vingtdeux *et al.* (2010) i Porquet *et al.* (2013), els animals van rebre el fàrmac en dosis més altes (350 mg/kg i 1 g/kg respectivament) també de manera oral, es va començar el tractament en edat jove (4 i 2 mesos en cada cas) i en el cas de Porquet *et al.* (2013), també va durar molt més (7 mesos). El de Vingtdeux *et al.* (2010) però, només va durar 15 dies, la qual cosa fa pensar que la dosi i l'edat d'inici del tractament és més important que la durada del tractament en si. L'estudi de Zhao *et al.* (2012) en rates ovariectomitzades, que van rebre dosis més baixes (40 i 80 mg/kg) de manera oral, en edat de 4 i 5 mesos, i durant 3 mesos de tractament, també va resultar efectiu, però el fet que fos sobre rates operades i rebessin D-galactosa i estradiol conjuntament amb el resveratrol, potser podria influir en les circumstàncies de millora, o si més no, s'allunya dels altres models analitzats.

Per altre banda, la via d'administració també resulta un factor important. En les diferents revisions bibliogràfiques que s'han analitzat, s'ha anat corroborant que els estudis en que els animals rebien el fàrmac per via injecció intraperitoneal mostraven els beneficis d'una manera més efectiva que no pas els que la rebien de manera oral. En el cas de Zhao *et al.* (2015), el resveratrol es va administrar per via oral en dosis de 40 i 80 mg/kg, però dins del grup que se'ls administrava resveratrol, una altre grup va rebre una dosi de 20 mg/kg que no van presentar millores. Per contra, en l'estudi de Dasgupta i Milbrandt (2007), es van fer servir ratolins de dos mesos d'edat els quals van rebre també una dosi de 20 mg/kg per injecció peritoneal, i aquests sí que van millorar.

La biodisponibilitat

Un altre factor molt important que dificulta al resveratrol dur a terme tot el seu potencial *in vivo*, té l'arrel en la baixa biodisponibilitat que té el fàrmac en els mamífers i encara més, en humans.

La biodisponibilitat és la proporció de fàrmac que és absorbida, metabolitzada i disponible per dur a terme els efectes biològics sobre els teixits (Caruana *et al.*, 2016). Concretament el que succeeix en el cas del resveratrol, és que aquest s'absorbeix i es metabolitza d'una manera molt ràpida, a part de tenir una pobre solubilitat en aigua i

una limitada estabilitat química, de manera que per si mateix no pot oferir els mateixos beneficis que presenta *in vitro*. De fet en la majoria d'estudis *in vivo* en que el resveratrol s'ha subministrat de manera oral, es demostra que la biodisponibilitat d'aquest era de menys d'un 1% (Ahmed *et al.*, 2017).

En l'estudi en humans que van dur a terme Turner *et al.* (2015), aquest fet es va veure reflectit quan es van analitzar les concentracions de resveratrol que hi havia en el líquid cefaloraquidi i plasma després de la seva administració. En comparació a les altes dosis que havien rebut els pacients, només es van aconseguir dosis nanomolars molt baixes en aquests dos fluids. Però per contra, els nivells de metabòlits glucosilats i sulfatats propis del fàrmac eren molt alts. Tot i així, encara que s'evidenciï la baixa disponibilitat del resveratrol, els efectes són significatius i per tant, no es pot concloure que aquests metabòlits no puguin presentar certa activitat i dur a terme els beneficis que el resveratrol exerceix.

Anàlegs del resveratrol

Com s'ha comentat anteriorment sobre la bibliografia analitzada, alguns anàlegs del resveratrol semblen ser més eficaços que ell mateix:

En l'estudi de Choi *et al.* (2011), es confirmava que hi havia oligòmers que en menys quantitat que el resveratrol, eren capaços d'inhibir l'activitat de BACE-1. En el de Koukoulista *et al.* (2016), també es demostrava que hi havia uns anàlegs més efectius que d'altres i ho van correlacionar amb l'alta lipofilitat que aquests presentaven. Tot i que el resveratrol ja de per si té una alta lipofilitat (la qual cosa és una propietat molt important per a la seva bioactivitat, ja que li permet travessar amb facilitat la barrera hematoencefàlica), aquests anàlegs encara ho són més.

Per últim, en l'estudi comparatiu que van dur a terme Porquet *et al.* (2013) entre el resveratrol i un derivat seu, el pterostilbene, també van demostrar que a l'administrar la mateixa dosi, el pterostilbene induïa més beneficis que el resveratrol. I de fet, pel que mostra la bibliografia analitzada, aquest anàleg ha estat estudiat en alguns assajos, tant *in vitro* com *in vivo*, donant bons resultats, sobretot pel que fa a la cognició i l'estrès cel·lular. El pterostilbene a més, també presenta més lipofilitat i permeabilitat que el

resveratrol. Tot i així, encara que sigui una molècula amb molt potencial terapèutic, encara calen molts anàlisis més per posar-lo a prova en humans (Lange i li, 2018).

6. CONCLUSIONS

1. Resveratrol shows a high pharmacological potential in the reduction of A β protein. In *in vitro* and *in vivo* models but less in humans, it has been shown that this drug induces the reduction of the protein.
2. The pathways for the reduction of A β protein are not so clear. It is clear that this reduction is not caused by a single isolated mechanism, and are connected to one another due to the transduction of the signal promoted by resveratrol. While the activation of AMPK seems indisputable in most of these mechanisms (it has been demonstrated both *in vitro* and *in vivo*), autophagy and inhibition of BACE-1 do not present as much experimental support as they are very more difficult to prove *in vivo*.
3. The decrease of hyperphosphorylation of tau has not been studied as much. Although some *in vivo* experiments demonstrate the ability of resveratrol to decrease the kinases involved in the abnormal phosphorylation processes, there are others that only demonstrate a decrease in tau proteins. These experiments do not study the mechanism through which it occurs. With regards to humans, the decrease in tau protein could not be demonstrated.
4. The lack of experimental evidence of resveratrol in human studies is associated with the short duration of the studies, the low dose administrated and the stage of the disease (it is better in the prodromal and moderate phases).
5. The low bioavailability of resveratrol is the mainly responsible of many of the benefits, which are easily demonstrable *in vitro* than *in vivo*, especially in mammals. Several recent studies demonstrate the high potential that some resveratrol analogs present due to higher lipophilicity and permeability.

BIBLIOGRAFIA

- Ahmed, T., Javed, S., Javed, S., Tariq, A., Šamec, D., Tejada, S., ... Nabavi, S. M. (2017). Resveratrol and Alzheimer's Disease: Mechanistic Insights. *Molecular Neurobiology*, 54(4), 2622–2635. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9839-9>
- alzheimers7801.jpg (Imagen JPEG, 780 × 596 píxeles) - Escalado (98 %). (n.d.). Retrieved July 18, 2018, from <https://29trk43m9fqk1s99cv31r8wx198t-wpengine.netdna-ssl.com/wp-content/uploads/2013/04/alzheimers7801.jpg>
- Berman, A. Y., Motechin, R. A., Wiesenfeld, M. Y., & Holz, M. K. (2017). The therapeutic potential of resveratrol: a review of clinical trials. *NPJ Precision Oncology*, 1(1). <https://doi.org/10.1038/s41698-017-0038-6>
- Bonda, D. J., Lee, H., Camins, A., Pallàs, M., Casadesus, G., Smith, M. A., & Zhu, X. (2011). The sirtuin pathway in ageing and Alzheimer disease: mechanistic and therapeutic considerations. *The Lancet Neurology*, 10(3), 275–279. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70013-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70013-8)
- Caruana, M., Cauchi, R., & Vassallo, N. (2016). Putative Role of Red Wine Polyphenols against Brain Pathology in Alzheimer's and Parkinson's Disease. *Frontiers in Nutrition*, 3, 31. <http://doi.org/10.3389/fnut.2016.00031>
- Catalgol, B., Batirel, S., Taga, Y., & Ozer, N. K. (2012). Resveratrol: French Paradox Revisited. *Frontiers in Pharmacology*, 3. <https://doi.org/10.3389/fphar.2012.00141>
- Chang, J., Rimando, A., Pallas, M., Camins, A., Porquet, D., Reeves, J., ... Casadesus, G. (2012). Low-dose pterostilbene, but not resveratrol, is a potent neuromodulator in aging and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 33(9), 2062–2071. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.08.015>
- Choi, C., Choi, Y., Cha, M.-R., Kim, Y., Yon, G., Hong, K., ... Ryu, S. (2011). In Vitro BACE-1 Inhibitory Activity of Resveratrol Oligomers from the Seed Extract of *Paeonia lactiflora*. *Planta Medica*, 77(04), 374–376. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250370>

- Dasgupta, B., & Milbrandt, J. (2007). Resveratrol stimulates AMP kinase activity in neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(17), 7217–7222. <https://doi.org/10.1073/pnas.0610068104>
- Fändrich, M., Schmidt, M., & Grigorieff, N. (2011). Recent progress in understanding Alzheimer's β -amyloid structures. *Trends in Biochemical Sciences*, 36(6), 338–345. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2011.02.002>
- Ghosh, H. S., McBurney, M., & Robbins, P. D. (2010). SIRT1 Negatively Regulates the Mammalian Target of Rapamycin. *PLoS ONE*, 5(2), e9199. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009199>
- Jayasena, T., Poljak, A., Smythe, G., Braid, N., Münch, G., & Sachdev, P. (2013). The role of polyphenols in the modulation of sirtuins and other pathways involved in Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews*, 12(4), 867–883. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2013.06.003>
- Kou, X., & Chen, N. (2017). Resveratrol as a Natural Autophagy Regulator for Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease. *Nutrients*, 9(9), 927. <https://doi.org/10.3390/nu9090927>
- Koukoulitsa, C., Villalonga-Barber, C., Csonka, R., Alexi, X., Leonis, G., Dellis, D., ... Mavromoustakos, T. (2016). Biological and computational evaluation of resveratrol inhibitors against Alzheimer's disease. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(1), 67–77. <https://doi.org/10.3109/14756366.2014.1003928>
- Lange, K. W., & Li, S. (2018). Resveratrol, pterostilbene, and dementia. *BioFactors*, 44(1), 83–90. <https://doi.org/10.1002/biof.1396>
- Ma, T., Tan, M.-S., Yu, J.-T., & Tan, L. (2014). Resveratrol as a Therapeutic Agent for Alzheimer's Disease. *BioMed Research International*, 2014, 350516. <http://doi.org/10.1155/2014/350516>
- Marques, F. Z., Markus, M. A., & Morris, B. J. (2009). Resveratrol: Cellular actions of a potent natural chemical that confers a diversity of health benefits. *The International Journal of*

Biochemistry & Cell Biology, 41(11), 2125–2128.
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.06.003>

Min, S.-W., Cho, S.-H., Zhou, Y., Schroeder, S., Haroutunian, V., Seeley, W. W., ... Gan, L. (2010). Acetylation of Tau Inhibits Its Degradation and Contributes to Tauopathy. *Neuron*, 67(6), 953–966. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.08.044>

Mockett, B. G., Richter, M., Abraham, W. C., & Müller, U. C. (2017). Therapeutic Potential of Secreted Amyloid Precursor Protein APPs α . *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00030>

Morselli, E., Mariño, G., Bennetzen, M. V., Eisenberg, T., Megalou, E., Schroeder, S., ... Kroemer, G. (2011). Spermidine and resveratrol induce autophagy by distinct pathways converging on the acetylproteome. *The Journal of Cell Biology*, 192(4), 615–629. <https://doi.org/10.1083/jcb.201008167>

Pallauf, K., & Rimbach, G. (2013). Autophagy, polyphenols and healthy ageing. *Ageing Research Reviews*, 12(1), 237–252. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2012.03.008>

Porquet, D., Casadesús, G., Bayod, S., Vicente, A., Canudas, A. M., Vilaplana, J., ... del Valle, J. (2013). Dietary resveratrol prevents Alzheimer's markers and increases life span in SAMP8. *AGE*, 35(5), 1851–1865. <https://doi.org/10.1007/s11357-012-9489-4>

Qiu, C., Kivipelto, M., & von Strauss, E. (2009). Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 11(2), 111–128.

Regitz, C., Fitzenberger, E., Mahn, F. L., Dußling, L. M., & Wenzel, U. (2016). Resveratrol reduces amyloid-beta (A β 1–42)-induced paralysis through targeting proteostasis in an Alzheimer model of *Caenorhabditis elegans*. *European Journal of Nutrition*, 55(2), 741–747. <https://doi.org/10.1007/s00394-015-0894-1>

Sawda, C., Moussa, C., & Turner, R. S. (2017). Resveratrol for Alzheimer's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1403(1), 142–149. <https://doi.org/10.1111/nyas.13431>

- Turner, R. S., Thomas, R. G., Craft, S., van Dyck, C. H., Mintzer, J., Reynolds, B. A., ... Alzheimer's Disease Cooperative Study, F. the A. D. C. (2015). A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of resveratrol for Alzheimer disease. *Neurology*, 85(16), 1383–1391.
<https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002035>
- Vingtdeux, V., Giliberto, L., Zhao, H., Chandakkar, P., Wu, Q., Simon, J. E., ... Marambaud, P. (2010). AMP-activated Protein Kinase Signaling Activation by Resveratrol Modulates Amyloid- β Peptide Metabolism. *Journal of Biological Chemistry*, 285(12), 9100–9113.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M109.060061>
- Zhao, H., Niu, Q., Li, X., Liu, T., Xu, Y., Han, H., ... Wang, Z. (2012). Long-term resveratrol consumption protects ovariectomized rats chronically treated with d-galactose from developing memory decline without effects on the uterus. *Brain Research*, 1467, 67–80.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.05.040>