



UNIVERSIDADE D
COIMBRA



Ângela Filipa de Andrade Cândido

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Doença Lisossomal de Sobrecarga – Biologia Celular e Estratégias Terapêuticas” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Dra. Maria Helena Correia Amado e da Professora Doutora Maria Celeste Lopes apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Fevereiro de 2019

Ângela Filipa de Andrade Cândido

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Doença Lisossomal de Sobrecarga – Biologia Celular e Estratégias Terapêuticas” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Professora Doutora Maria Celeste Lopes e da Doutora Maria Helena Correia Amado apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Fevereiro de 2019



UNIVERSIDADE D
COIMBRA



Eu, Ângela Filipa de Andrade Cândido, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2012140311, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada "Doença Lisossomal de Sobrecarga – Biologia Celular e Estratégias Terapêuticas" apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular. Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 08 de fevereiro de 2019.

Ângela Filipa de Andrade Cândido

(Ângela Filipa de Andrade Cândido)

Agradecimentos

Aos meus pais e ao meu irmão,

por terem abdicado de tanto para que eu pudesse concretizar este sonho, pelo apoio em todos os momentos de maior dificuldade e por acreditarem sempre em mim e nas minhas potencialidades. Também ao meu cão Gomas, que foi um grande companheiro nesta jornada.

Aos meus amigos,

por terem enriquecido a minha caminhada estudantil com companheirismo, apoio e carinho. Por tudo o que partilhámos e vivemos em conjunto nesta academia, não vos esquecerei!

A toda a equipa da Farmácia Luciano & Matos,

Dr.^a Helena Amado, Sr. Eng.^o José Amado, Dr.^a Andreia Rocha, Dr.^a Rosa Cunha, Dr.^a Mónica Casanova, Dr.^a Mélanie Duarte, Dr.^a Carmen Monteiro, Dr. Gonçalo Lourenço, Sr. Manuel Rodrigues, Susana Ribeiro, D. Rosa Cortesão e Filipe André, um grande obrigado por todos os ensinamentos, conselhos, carinho e amizade, não podia ter escolhido melhor o local de estágio para o culminar da minha formação académica.

À Professora Doutora Maria Celeste Lopes,

por toda a compreensão e apoio na concretização desta monografia,
um agradecimento especial.

It always seems impossible until it's done.

Nelson Mandela

Índice

Parte I - Monografia	6
Lista de abreviaturas	7
Resumo	9
Abstract	9
1. Introdução.....	10
2. O Sistema Endossoma/ Lisossoma	11
2.1 Estrutura e biogênese lisossomal	11
2.2 Funções e atividade biológica do Sistema Endossoma/ Lisossoma	14
3. Doenças Lisossomais de Sobrecarga	15
3.1 Classificação	16
3.2 Mecanismos celulares de sobrecarga lisossomal	17
3.3 Mecanismos secundários à sobrecarga lisossomal	18
3.4 Epidemiologia.....	21
3.5 Estratégias terapêuticas	22
3.5.1 Transplante de células estaminais hematopoiéticas.....	22
3.5.2 Substituição enzimática	23
3.5.3 Moléculas que atuam como <i>chaperones</i>	24
3.5.4 Redução de substrato.....	25
3.5.5 Reguladores da proteostase.....	25
3.5.6 Terapia génica	26
4. Doença de Niemann-Pick tipo CI	27
4.1 Patogénese celular e molecular	27
4.2 Manifestações clínicas e prognóstico.....	29
4.3 Formas de Diagnóstico.....	29
4.4 Terapêutica para a NP-CI	30
4.4.1 Redução de Substrato - Miglustat (Zavesca®).....	31
4.4.2 Terapêutica em ensaios clínicos.....	32
5. Conclusão	36
6. Referências Bibliográficas.....	37
7. Anexos	44

Parte II - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária	46
Lista de Abreviaturas	47
1. Introdução.....	48
2. A Farmácia Luciano & Matos	49
3. Análise SWOT	50
3.1 Pontos Fortes (<i>Strengths</i>).....	50
3.1.1 Integração na equipa técnica.....	50
3.1.2 Planificação do estágio por etapas.....	50
3.1.3 Aplicação/aquisição de conhecimentos em contexto prático e Autonomia.....	52
3.1.4 Abordagem do utente através de uma visão holística	52
3.1.5 Desenvolvimento de técnicas de comunicação e <i>Merchandising</i>	53
3.2 Pontos Fracos (<i>Weaknesses</i>).....	53
3.2.1 Dificuldade inicial em aconselhar medicamentos não sujeitos a receita médica.....	53
3.2.2 Dificuldade em reconhecer substâncias ativas pelas marcas comerciais	54
3.2.3 Dificuldade em aconselhar produtos de dermofarmácia e cosmética, dispositivos médicos e produtos veterinários.....	54
3.3 Oportunidades (<i>Opportunities</i>).....	55
3.3.1 Integração numa farmácia <i>Holon</i>	55
3.3.2 Heterogeneidade de utentes	56
3.3.3 Realização de um medicamento manipulado.....	56
3.3.4 Participação em formações complementares	57
3.3.5 Contacto com o Sifarma 2000® e com o <i>Robot</i>	58
3.3.6 Contacto com o Sistema de Gestão de Qualidade e filosofia <i>Kaizen</i>	59
3.4 Ameaças (<i>Threats</i>)	60
3.4.1 Sistema informático e gestão administrativa ao balcão.....	60
3.4.2 Escassez de tempo para o utente e para integração de conhecimento.....	60
3.4.3 Produtos esgotados	61
3.4.4 Descredibilização do estagiário pelo utente	61
4. Casos práticos.....	62
4.1 Caso prático n.º 1	62
4.2 Caso prático n.º 2.....	63
5. Conclusão.....	64
6. Referências Bibliográficas.....	65
7. Anexos	66

Parte I

Monografia intitulada “Doença Lisossomal de Sobrecarga - Biologia Celular e Estratégias Terapêuticas”

Lista de Abreviaturas

ATF 6: *Activating Transcription Factor 6*

BHE: Barreira Hematoencefálica

CHO: *Chinese Hamster Ovary*

CLEAR: *Coordinated Lysosomal Expression and Regulation Network*

DLS: Doenças Lisossomais de Sobrecarga

DNA: *Deoxyribonucleic Acid*

eIF2 α : *Eukaryotic Initiation Factor 2*

E/L: Endossoma/Lisossoma

EMA: *European Medicines Agency*

ERT: *Enzyme-Replacement Therapy*

FDA: *Food and Drug Administration*

FGE: *C α -formylglycine-generating*

HDAC: *Histone Deacetylase*

HDACi: *Histone Deacetylase Inhibitors*

HP β CD: 2-Hidroxipropil- β -ciclodextrina

HSCT: *Hematopoietic Stem Cell Transplantation*

HSP: *Heat Shock Proteins*

IRE 1: *Inositol-Requiring Kinase 1*

LAMP-1: *Lysosome-Associated Membrane Protein 1*

LAMP-2: *Lysosome-Associated Membrane Protein 2*

LDL: *Low Density Lipoprotein*

LDM: Leucodistrofia Metacromática

LIMP-2: *Lysosomal Integral Membrane Protein 2*

LROs: *Lysosome-Related Organells*

LYNUS: *Lysosomal Nutrient Sensing*

M6P: Manose-6-fosfato

MPS I: Mucopolissacaridose I

MPS II: Mucopolissacaridose II

MPS IIIB: Mucopolissacaridose III variante B ou Síndrome de Sanfilippo B

MPS: Mucopolissacaridoses

mTORC I: *Mamalian Target of Rapamycin Complex I*

NCL: *Neuronal Ceroid Lipofuscinosis*

NPC I: *NPC Intracellular Cholesterol Transporter 1*

NPC 2: *NPC Intracellular Cholesterol Transporter 2*

NP-C: Niemann-Pick tipo C

NP-C1: Doença de Niemann-Pick tipo C1

NP-C2: Doença de Niemann-Pick tipo C2

PERK: *Protein Kinase Regulated by RNA-like ER Kinase*

RE: Retículo Endoplasmático

RER: Retículo Endoplasmático Rugoso

ROS: *Reactive Oxygen Species*

SAPs: *Sphingolipid Activator Proteins*

SNC: Sistema Nervoso Central

SSD: *Sterol-Sensing Domain*

TFEB: Fator de Transcrição EB

UPR: *Unfolded Protein Response*

v-ATPases: ATPases vacuolares

VSGP: *Vertical Supranuclear Gaze Palsy*

Resumo

O Sistema Endossoma/Lisossoma (E/L) é importante para manter a homeostase da célula. Quando surge uma mutação em genes que codificam proteínas com funções no sistema E/L, ocorre a perda da homeostase celular e o aparecimento de doença.

A doença do lisossoma denomina-se Doença Lisossomal de Sobrecarga (DLS). A DLS compreende um grande conjunto de doenças hereditárias, maioritariamente de caráter autossômico recessivo. Estas doenças são raras e clinicamente muito heterogêneas. Atualmente, existem estratégias terapêuticas que permitem controlar algumas das DLS e estratégias terapêuticas em ensaios clínicos com resultados promissores.

A doença de Niemann-Pick tipo CI (NP-CI) é uma doença, essencialmente pediátrica, na qual ocorre alteração do transporte intracelular de material de natureza lipídica. Assim, ocorre a acumulação deste material em vários órgãos, nomeadamente no cérebro, resultando na neurodegenerescência. Até à data atual, só existe uma terapêutica disponível para a NP-CI, encontrando-se três moléculas em ensaios clínicos.

Palavras-Chave: Lisossoma; Sistema Endossoma/Lisossoma; Doença Lisossomal de Sobrecarga; Mutação; Proteína lisossomal; Estratégias Terapêuticas; Doença de Niemann-Pick tipo CI

Abstract

Endosome/Lysosome System (E/L) is important to maintain cell homeostasis. When a mutation occurs in genes encoding proteins with key roles in the E/L system, there is loss of cell homeostasis and the onset of disease.

Lysosomal disease is called Lysosomal Storage Disease (LSD). LSD comprises a large set of diseases inherited, mostly, as autosomal recessive traits. These disorders are rare and clinically very heterogeneous. Currently, there are therapeutic strategies that allow to control some of the LSD and therapeutic strategies in clinical trials with promising results.

Niemann-Pick type CI disease (NP-CI) is, essentially, a pediatric disease in which there is an impaired intracellular transport of lipid-like material. Thus, accumulation of this material occurs in several organs, particularly the brain, resulting in neurodegeneration. To date, there is only one available therapy for NP-CI. Three molecules are being tested in clinical trials.

Keywords: Lysosome; Endosome/Lysosome System; Lysosomal Storage Disease; Mutation; Lysosomal Protein; Therapeutic Strategies; Niemann-Pick Disease type CI

I. Introdução

O lisossoma é um organelo celular, delimitado por uma membrana lipídica, com uma constituição molecular complexa importante para a sua função biológica. Este organelo encontra-se num estado dinâmico na célula e é originado pela fusão de pré-lisossomas com outra estrutura com a qual partilha componentes, o endossoma tardio. A dinâmica entre estes dois compartimentos da célula pode ser designada de Sistema Endossoma/ Lisossoma (E/L).

Inicialmente, os lisossomas eram vistos como simples vesículas exclusivamente especializadas no catabolismo da célula e na proteção contra microrganismos patogénicos. Nos últimos anos, este organelo tem vindo a adquirir uma importância crescente devido à identificação de novas funções, designadamente na sinalização intracelular, na comunicação com outros organelos e na comunicação com a matriz extracelular através da exocitose do conteúdo intraluminal. Assim, uma alteração na constituição molecular do lisossoma leva à desregulação da homeostase da célula e à acumulação de material não degradado, originando stress do Retículo Endoplasmático (RE), desregulação da homeostase do cálcio, stress oxidativo, desregulação da autofagia e inflamação.

A doença do lisossoma é designada por Doença Lisossomal de Sobrecarga (DLS) e compreende um conjunto de mais de 70 patologias diferentes em termos de mecanismos celulares, de manifestações clínicas (sinais e sintomas clínicos) e de idade de aparecimento dos primeiros sintomas. No entanto, todas as DLS se devem a uma mutação num gene específico que codifica uma proteína importante para o funcionamento do sistema E/L.

As DLS são doenças hereditárias de carácter autossómico recessivo que podem apresentar forma infantil, juvenil ou adulta. Estas patologias são consideradas individualmente raras, afetando cumulativamente entre 7,5 e 23,5 indivíduos por 100 000 recém-nascidos. Em Portugal, a prevalência estimada é de 1 em cada 4 000 recém-nascidos.

A maioria das DLS apresenta envolvimento do Sistema Nervoso Central (SNC), sendo a característica clínica mais frequente a neurodegenerescência progressiva, que corresponde ao prognóstico mais severo da doença. Porém, também apresenta características clínicas relacionadas ao comprometimento de órgãos e tecidos periféricos.

Atualmente, já existem algumas estratégias terapêuticas que permitem controlar estas doenças (ou que apresentam resultados promissores em ensaios clínicos), sendo direcionadas para cada uma das etapas em que podem ocorrer mecanismos celulares que originam DLS: transplante de células estaminais hematopoiéticas, terapêutica de substituição enzimática, moléculas que atuam como *chaperones*, terapêutica de redução de substrato, reguladores da proteostase e terapia génica.

A doença de Niemann-Pick tipo CI (NP-CI) é um tipo de DLS que se manifesta frequentemente em estádios precoces do desenvolvimento humano. Esta doença deve-se a uma mutação no gene que codifica uma proteína de membrana lisossomal responsável pelo transporte de materiais de natureza lipídica, levando à sua acumulação excessiva principalmente no baço, fígado e SNC.

Esta monografia tem como principal objetivo conhecer e compreender a biologia celular subjacente às DLS, as estratégias terapêuticas existentes, aprovadas e em ensaios clínicos, assim como abordar em particular uma dessas doenças, a NP-CI.

2. O Sistema Endossoma/ Lisossoma

2.1 Estrutura e biogénese lisossomal

Os lisossomas foram descritos pela primeira vez em 1955 por Christian de Duve e colaboradores, como estruturas densas delimitadas por uma membrana, com conteúdo intraluminal ácido (pH entre 3 e 6) e munido de enzimas hidrolíticas, apenas ativas no meio ácido^{1,2}.

Atualmente estão descritas cerca de 60 enzimas lisossomais, classificadas em diferentes famílias de acordo com o tipo de substrato em que atuam: lipases, proteases, fosfatases, glucosidases, nucleases, sulfatases, etc.^{1,2,3}. Estas enzimas são glicoproteínas sintetizadas no Retículo Endoplasmático Rugoso (RER), onde adquirem a sua conformação nativa, e são translocados para o complexo de Golgi^{1,2,3}. No compartimento cis, ocorre a fosforilação de resíduos de manose, ficando as proteínas sinalizadas com resíduos de manose-6-fosfato (M6P)^{1,2,3}. Na rede trans, as proteínas ligam-se a recetores que reconhecem os resíduos de M6P, são incluídas em vesículas e direcionadas aos endossomas tardios e aos lisossomas^{1,2,3}. Contudo, algumas enzimas são transportadas por uma via independente da via do recetor da M6P^{2,3,4}. É o caso da fosfatase ácida, que utiliza a via constitutiva^{2,3,4}. Por esta via, a proteína é transportada em vesículas diretamente da rede trans do complexo de Golgi até à membrana citoplasmática^{2,3,4}. A partir da qual, por endocitose, é transportada até aos endossomas precoces e destes aos lisossomas^{2,3,4}. A β -glucocerebrosidase também não utiliza a via do recetor da M6P, em vez disso liga-se à proteína designada por *Lysosomal Integral Membrane Protein 2* (LIMP-2 ou SCARB2), no RER, sendo direcionada até ao lisossoma^{2,3,4}. Devido ao pH ácido no lisossoma, as proteínas tornam-se aptas a exercer a função biológica^{2,3,4}.

Para além de hidrolases, o lisossoma contém também cofatores não enzimáticos necessários à degradação de glicoesfingolípido, designados por *Sphingolipid Activator Proteins*

(SAPs)^{2,4}. O mecanismo pelo qual chegam ao lisossoma ainda não se encontra bem elucidado, mas há indícios de que utilizem o recetor Sortilina. As hidrolases e as SAPs encontram-se em vesículas intra-lisossomais onde realizam/promovem a degradação de substratos^{2,4}.

A membrana do lisossoma é uma bicamada fosfolipídica que, à semelhança da membrana plasmática, apresenta proteínas na sua constituição, integrais e periféricas, em que as mais abundantes são as *Lysosome-Associated Membrane Proteins* (LAMP-1 e LAMP-2)⁵. Estas, juntamente com a LIMP-2 e a *Cluster of Differentiation 63* (CD 63), apresentam-se glicosiladas na porção intraluminal, constituindo o glicocálice lisossomal, importante para proteger a membrana do ataque das enzimas hidrolíticas⁵. A LAMP-1 está também relacionada com a ancoragem à membrana citoplasmática e com o transporte do lisossoma através do citoesqueleto da célula, uma vez que se liga a proteínas que fazem parte dos microtúbulos do citoesqueleto. A LAMP-1, juntamente com a *Lysosomal Integral Membrane Protein 1* (LIMP-1), participa ainda na translocação de enzimas para o lisossoma⁶.

Além destas, a membrana do lisossoma possui ainda proteínas que funcionam como bombas de prótons, são as ATPases vacuolares (v-ATPases)^{2,6}. Estas permitem manter o pH ácido no lúmen do lisossoma, importante para a atividade enzimática, e fazem parte do complexo *Lysosomal Nutrient Sensing* (LYNUS)^{2,6}. O complexo LYNUS é responsável por enviar sinais ao núcleo da célula com informação acerca do conteúdo do lisossoma, nomeadamente nutrientes^{2,6}.

Entre muitas mais proteínas já identificadas, encontram-se também a *NPC intracellular cholesterol transporter 1* (NPC 1), que facilita o transporte de substratos lipídicos e aminas para o exterior do lisossoma⁶, a *Sodium-Coupled Neutral Amino Acid Transporter 9* (SLC38A9), que transporta a arginina e a LAMP-2 que transporta substratos do citosol para o interior^{2,6}. Para regulação do ambiente iónico está presente a Mucopolina I (MCOLN 1), que também participa na sinalização celular, através do ião Ca^{2+} durante a fusão de lisossomas com outras membranas^{2,6}.

As proteínas lisossomais membranares não se ligam ao recetor de M6P, sendo transportadas para o lisossoma a partir da rede trans do complexo de Golgi, através de um processo mediado pela *Adaptor Protein-3* (AP3), ou através da via constitutiva, na qual são direcionadas primeiro para a membrana plasmática e posteriormente endocitadas^{4,7}.

Este organelo, devido à sua constituição, é especializado na atividade catalítica da célula⁵. Para tal, existem diferentes vias pelas quais os substratos podem alcançar os lisossomas para sua posterior degradação⁵. Macromoléculas (hidratos de carbono, lípidos, proteínas,

ácidos nucleicos) são internalizadas nas células por endocitose, enquanto que microrganismos e partículas de grandes dimensões são internalizados por fagocitose⁵.

Existem vários modelos explicativos da biogênese lisossomal⁷, porém o mais descrito na literatura é o modelo “híbrido”, no qual existe uma estrutura que partilha componentes do endossoma tardio e do lisossoma, transformando todo o processo num dinâmico sistema E/L. O material proveniente da endocitose é envolvido em vesículas que, ao fundirem entre si, dão origem ao endossoma precoce^{1,7}. Recetores e componentes da membrana citoplasmática não destinados a degradação retornam a esta por uma via de transporte retrógrada, promovendo assim a reciclagem de componentes necessários ao normal funcionamento celular^{1,7}. A partir do endossoma precoce são formadas vesículas que vão fundir com o endossoma tardio e este, por sua vez, recebe proteínas lisossomais pela fusão com vesículas provenientes do complexo de Golgi^{1,7}. Por conseguinte, ocorre a fusão entre endossomas tardios e lisossomas pré-existentes, originando-se uma estrutura híbrida, que contém enzimas lisossomais e recetores de M6P^{1,7}. Apenas após um processo de maturação, no qual os recetores de M6P regressam ao complexo de Golgi, surge o lisossoma, neste caso o heterolisossoma^{1,7}. O autolisossoma é formado após um processo de maturação dos autofagossomas no qual a membrana adquire proteínas lisossomais e o lúmen adquire hidrolases e pH ácido, devido à atividade de v-ATPases^{1,7}.

Estes processos que envolvem fusões sucessivas entre membranas são mediados por proteínas como as *Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor activating protein receptor* (SNARE) e as proteínas RAB GTPases^{2,6,7}.

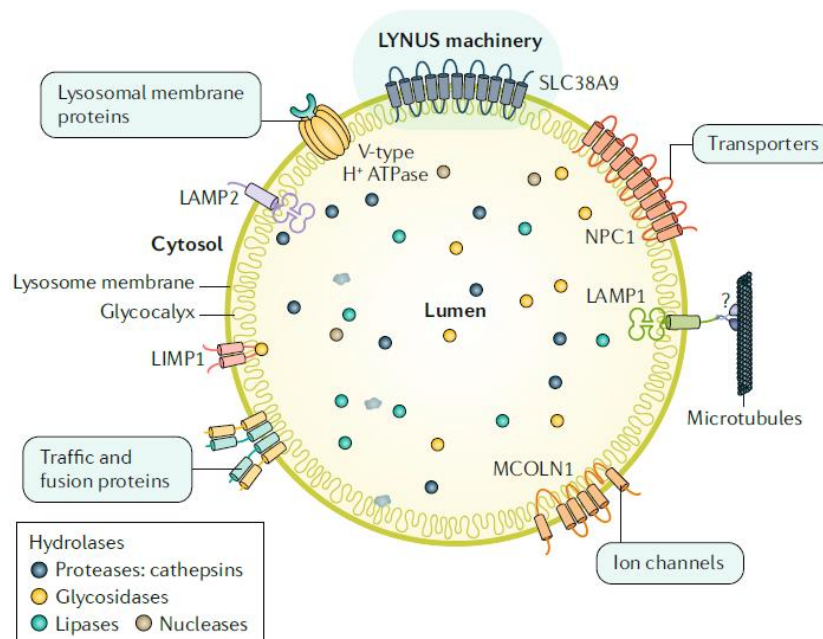


Fig. 1 – Esquema da estrutura e composição molecular do lisossoma⁶.

2.2 Funções e atividade biológica do Sistema Endossoma/ Lisossoma

O sistema E/L tem como principais funções: i) fornecer à célula os constituintes fundamentais para o turnover celular e produção de energia; ii) permitir a clearance e reciclagem de material celular desnecessário e iii) proteger a célula de ameaças externas por inativação de organismos patogênicos e processamento de antigénios¹.

Atualmente, através de estudos de análise proteômica, percebeu-se que os lisossomas não estão apenas envolvidos na função catabólica da célula⁶. Estes organelos têm também, graças a determinadas proteínas, um importante papel na deteção e controlo de necessidades nutritivas da célula, na homeostase de aminoácidos e iões, na sinalização do ião cálcio, na comunicação intercelular e na comunicação com a matriz extracelular⁶. Esta capacidade de comunicação deve-se à recente perceção de que os lisossomas realizam exocitose, através da fusão mediada por Ca^{2+} com a membrana plasmática, ocorrendo a secreção do seu conteúdo para o espaço extracelular e permitindo a reparação de danos na membrana plasmática².

Os lisossomas apresentam, além disso, locais na membrana especializados na comunicação com outros organelos, como a mitocôndria e o RE, permitindo a transferência de lípidos, metabolitos e iões de cálcio, modulando a atividade destes organelos na célula⁶.

Recentemente, identificou-se que na superfície do lisossoma existe um conjunto de proteínas que interagem entre si, o complexo LYNUS, constituído pela v-ATPase e pelo *Mamalian Target of Rapamycin Complex I* (mTORC I)^{2,3}. Na presença de nutrientes no lisossoma, o fator de transcrição EB (TFEB) é fosforilado pelo mTORC I, tornando-se inativo^{2,3}. Pelo contrário, se ocorrer carência nutritiva, o mTORC I é libertado do LYNUS e torna-se impossibilitado de fosforilar o TFEB^{2,3}. Assim, o TFEB mantém-se livre no citosol e é translocado para o núcleo^{2,3}. No núcleo liga-se a regiões específicas do DNA e vai regular a transcrição de um conjunto de genes pertencentes ao *The Coordinated Lysosomal Expression and Regulation Network* (CLEAR). Desta forma ocorre a síntese de proteínas envolvidas no sistema E/L, na autofagia e no metabolismo lipídico^{2,3}, com o consequente aumento do número de lisossomas na célula para a realização dos processos catabólicos^{2,3}.

Estes sinais dirigidos ao núcleo da célula, através de fatores de ativação da transcrição genética, permitem ao organelo adaptar-se a condições tanto fisiológicas como patológicas^{2,3}.

Mutações em genes do CLEAR levam ao deficiente ou ausente processamento e degradação de substratos, deficiente transporte de lípidos e metabolitos e dificuldade da célula em adaptar-se a condições adversas. Desta forma, ocorre uma acumulação de substratos não

degradados ou parcialmente degradados no lisossoma, originando as chamadas Doenças Lisossomais de Sobrecarga (DLS).

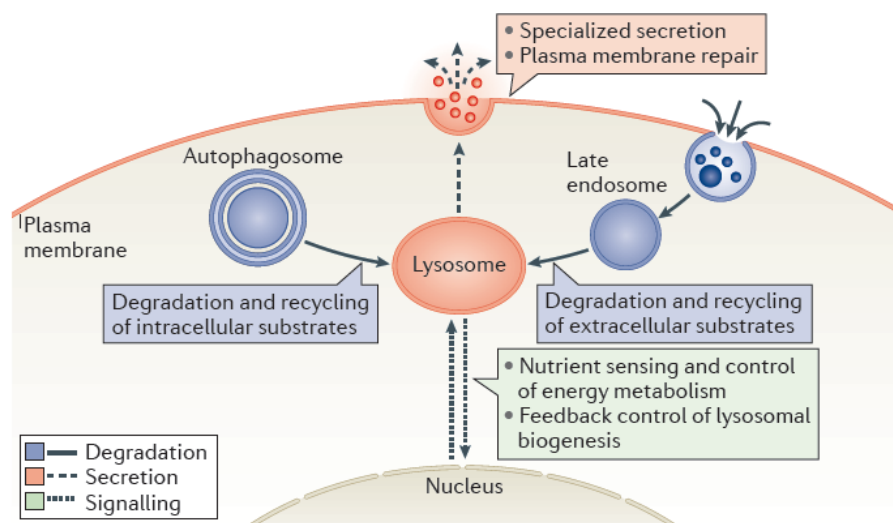


Fig. 2 - O lisossoma como um centro regulador de diversas funções celulares².

3. Doenças Lisossomais de Sobrecarga

As DLS compreendem um conjunto de mais de 70 doenças hereditárias, na sua grande maioria de caráter autossômico recessivo⁶, com exceção da doença de Fabry e da Mucopolissacaridose II (MPS II), que estão relacionadas ao cromossoma X⁸.

Estas patologias surgem devido a mutações que ocorrem num determinado gene que codifica uma proteína indispensável ao funcionamento do sistema E/L^{6,8,9}. Esta proteína pode ser uma enzima hidrolítica; uma proteína solúvel não enzimática; uma proteína membrana do lisossoma; ou uma proteína não lisossomal, mas que esteja indiretamente implicada no funcionamento do sistema E/L^{6,8,9}. O mesmo gene pode sofrer diferentes tipos de mutação. Os tipos de mutações que mais frequentemente se encontram na base de DLS são: *missense*, *nonsense*, *splicing*, deleções parciais e inserções^{9,10}.

Alterações nestas proteínas, ou a sua completa ausência, levam a que as funções do lisossoma estejam comprometidas, resultando numa acumulação de macromoléculas na célula, disfunção e morte celular, com repercussões nos órgãos e tecidos do organismo humano⁶.

As manifestações clínicas e o seu grau de severidade estão relacionados com o grau de função residual da proteína, com o tipo de células afetadas, com o tipo de substrato ou metabolito acumulado e o seu impacto no estadio de desenvolvimento do indivíduo⁹. Contudo, o percurso clínico revela-se muitas vezes imprevisível e heterogéneo entre indivíduos devido aos diferentes mecanismos secundários despoletados pela sobrecarga lisossomal⁹.

De acordo com a idade de aparecimento dos sintomas, as DLS podem apresentar forma infantil, juvenil ou adulta, sendo a infantil a mais frequente e severa, com envolvimento neurológico e morte prematura⁶. Os sinais e sintomas clínicos mais frequentes são: neurodegenerescência progressiva, síndrome epilético, doença psiquiátrica, hepatoesplenomegalia, malformações ósseas, doença renal e cardíaca, atrofia muscular e doença ocular^{3,9}.

3.1 Classificação

Uma vez que as DLS englobam várias patologias, tem havido nos últimos anos uma organização eficaz das DLS por categorias para uma melhor caracterização dos mecanismos patogénéticos e identificação das possíveis estratégias e alvos terapêuticos.

A classificação com base na proteína afetada e no mecanismo que está na base de cada patologia é a mais utilizada. Assim, as DLS encontram-se classificadas com base nas:

- i) Deficiências em enzimas lisossomais (50), subdivididas em:
 - Esfingolipidoses: doença de Fabry, doença de Gaucher, Leucodistrofia Metacromática (LDM), Niemann-Pick tipo A e B, Gangliosidose GM1, Gangliosidose GM2 (que inclui a doença de Sandhoff, a doença do Ativador GM2 e a doença Tay-Sachs);
 - Mucopolissacaridoses (MPS): Síndrome de Hurler (MPS I), Síndrome de Hunter (MPS II), Síndrome de Sanfilippo B (ou MPS IIIB);
 - Doenças de sobrecarga de glicogénio: doença de Pompe;
 - Glicoproteinoses: Aspartilglucosaminúria, Galactosialidose;
 - Doenças de sobrecarga de lípidos: doença de Wolman;
 - Defeitos na modificação de pós-tradução: Deficiência Múltipla de Sulfatase, doença Mucopolidose II α/β (que inclui a Polidistrofia Pseudo-Hurler e a doença I-Cell).
- ii) Deficiências em proteínas integrais da membrana lisossomal (7): Cistinose, doença de Danon, Niemann-Pick tipo C1 (NP-C1) e Niemann-Pick tipo C2 (NP-C2), Mucopolidose tipo IV.
- iii) Lipofuscinose Ceroide Neuronal (Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, NCL) (14).
- iv) Doenças Lysosome-Related Organells (LROs) (12)⁶.

3.2 Mecanismos celulares de sobrecarga lisossomal

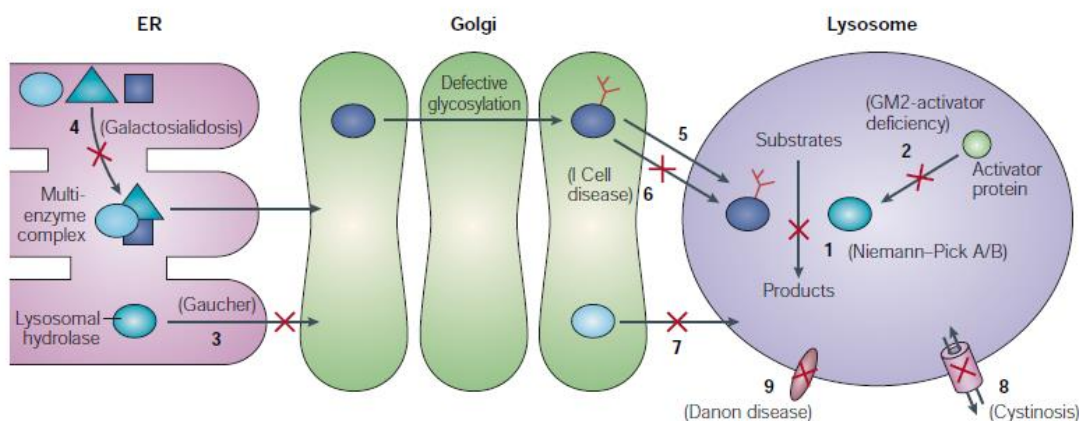


Fig. 3 Esquemas das diferentes etapas em que podem ocorrer mecanismos celulares que originam DLS⁹.

Existem vários mecanismos celulares que podem originar cada uma das diferentes formas das DLS, tendo em conta o gene que sofreu a mutação. A mais comum é a mutação genética que leva à formação de uma enzima hidrolítica com atividade catalítica reduzida, não degradando convenientemente o respetivo substrato, por exemplo, nas doenças de Niemann-Pick A e B⁹. Estas doenças devem-se a uma mutação no gene *SMPDI*⁶, levando a uma deficiência na enzima esfingomielina fosfodiesterase, que realiza a hidrólise da esfingomielina em fosforilcolina e ceramida¹¹. A sua deficiência leva à acumulação de esfingomielina¹¹.

Noutras situações, a mutação pode levar ao defeito de uma proteína de ativação enzimática, levando a que determinadas hidrolases não realizem a sua atividade catalítica, por exemplo a doença do ativador GM2⁹. Esta doença é causada por uma mutação no gene *GM2A* e leva à deficiência do cofator para a ativação da enzima β -hexosaminidase, que degrada gangliósidos e glicosfingolípidos, o que leva à acumulação destes substratos¹².

Pode também acontecer que a mutação se traduza numa anormal conformação da enzima com consequente defeito no transporte do RER para o complexo de Golgi, como no caso da doença de Gaucher⁹. Nesta doença, ocorre uma mutação no gene *GBA* que codifica a β -glucosidase, uma enzima que degrada a glucosiceramida (o substrato que se encontra acumulado)⁶.

Uma disfunção em determinados complexos enzimáticos responsáveis pelo transporte de uma proteína lisossomal do RER para o Golgi é outra possibilidade. É o que acontece na doença da Galactosialidose⁹. Nesta doença, a mutação ocorre no gene *CTSA* que codifica a catepsina A, uma protease que faz parte do complexo enzimático que se associa aos precursores das glicosidases, protegendo-os da proteólise no lisossoma^{6,9}.

Podem também ocorrer defeitos na glicosilação, com consequente redução da atividade catalítica da enzima, ou ineficiente marcação com M6P. Na doença Mucopolidose II α/β existe um defeito numa enzima que participa na biossíntese de M6P no complexo de Golgi, levando a que as enzimas lisossomais sejam exocitadas para fora da célula e não translocadas para o lisossoma⁹.

Outro defeito a nível da pós-tradução ocorre na Deficiência Múltipla de Sulfatase. A base molecular desta doença inicia-se com uma mutação no gene que codifica a enzima *C α -formylglycine-generating* (FGE). Uma disfunção da FGE leva à não conversão de resíduos de cisteína, presentes no centro catalítico de todas as sulfatases, em resíduos de C α -formilglicina, no RER, resultando na redução da sua atividade catalítica⁹.

Surgem ainda as mutações que levam a defeitos em proteínas da membrana lisossomal, por exemplo na doença de Danon, a Cistinose e a NP-C1⁹. Na doença da cistinose ocorre uma mutação no gene CTNS que leva a um defeito na proteína cistinosina. Esta proteína é responsável pelo transporte de cistina do lisossoma para o citosol, portanto, encontrando-se ineficiente, leva à acumulação deste aminoácido no lisossoma⁹. Na doença de Danon, mutações no gene que codifica a LAMP-2, levam à acumulação de vacúolos no lisossoma com resíduos provenientes do citoplasma e glicogénio⁹. A doença NP-C1 será abordada no ponto 4 da presente monografia.

Relativamente às doenças da NCL, na base da sua génese está uma mutação ao nível de um dos oito genes identificados como genes NCL, cuja alteração leva a defeitos em proteínas, as proteínas CLN. Nas proteínas CLN incluem-se hidrolases lisossomais solúveis (CLN 1 e 2) e proteínas transmembranares (CLN 3, 5, 6 e 8). Um defeito em qualquer uma destas proteínas origina uma doença NCL com características clínicas diferentes, em que ocorre acumulação de lipofuscina⁹.

Por fim, as doenças LROs devem-se a mutações que afetam a estrutura de *lysosome-related organelles*, vesículas semelhantes a organelos mas que se encontram em células específicas do organismo, como células endoteliais, linfócitos e plaquetas⁶.

3.3 Mecanismos secundários à sobrecarga lisossomal

A acumulação de macromoléculas nos lisossomas despoleta uma série de eventos secundários que culminam na morte celular e, consequentemente, na disfunção e degeneração do órgão ou tecido afetado. Esta cascata de eventos depende do tipo de célula implicada e do tipo de macromoléculas acumuladas, sendo diferente entre as DLS⁶.

Entre os eventos mais frequentemente identificados nas DLS, que propiciam a progressão da doença, estão: i) o stress do RE; ii) a desregulação da homeostase do cálcio; iii) o stress oxidativo; iv) a desregulação da autofagia; v) a inflamação¹³.

O stress do RE surge devido à acumulação de proteínas disfuncionais neste organelo, que por sua vez pode ser despoletada por uma depleção de cálcio no seu interior, levando à ativação do *Unfolded Protein Response* (UPR)¹⁴. O UPR é um sistema de controlo que permite ao RE adaptar-se às condições adversas ou levar à apoptose da célula em caso de stress prolongado, através da ativação de três proteínas transmembranares deste organelo: a *Activating Transcription Factor 6* (ATF6), a *Inositol-Requiring Kinase 1* (IRE 1) e a *Protein Kinase Regulated by RNA-like ER Kinase* (PERK)¹⁴.

A ATF6 dirige-se para o complexo de Golgi, onde é clivada libertando o fragmento N-terminal. Este fragmento dirige-se ao núcleo, induzindo a expressão de *chaperones* que ajudam a estabilizar as proteínas acumuladas no RE¹⁴.

A IRE 1 catalisa o *splicing* do gene da proteína *X-Box-Binding Protein 1* (XBP 1), originando a *spliced* XBPI (s-XBP 1) e induzindo apoptose¹⁴.

A PERK fosforila o *Eukaryotic Initiation Factor 2* (eIF2 α) e este por sua vez inibe a transcrição do DNA, diminuindo a tradução proteica no RE¹⁴. O eIF2 α ativa a proteína *CCAAT/Enhancer-Binding Protein Homologous Protein* (CHOP), que por sua vez ativa a produção de *Reactive Oxygen Species* (ROS) e mediadores de morte celular como o *DNA Damage Inducible Gene 34*, o *Bcl-2 Interacting Mediator of Cell Death*, a caspase 12 e as *c-Jun N-terminal kinases*^{14,15,16}.

Os mecanismos que levam à desregulação da homeostase do cálcio dependem do material acumulado na célula e dos canais/bombas de cálcio afetados¹³. Na doença de Gaucher, Sandhoff e Gangliosidose GMI verificou-se que ocorria uma depleção de cálcio no RE, levando a stress neste organelo, ativação do UPR e dos mecanismos de apoptose¹³. Na primeira, devido à ativação do canal de cálcio *Ryanodine Receptor* pela glucosilceramida; na segunda, devido a diminuição da captação de cálcio pela Ca^{2+} -ATPase (SERCA); e na terceira, devido a ativação do canal *Inositol 1,4,5-trifosfato Gated Calcium Release Chanel* pelos gangliósidos¹³.

Além do RE, a mitocôndria também desencadeia vias de apoptose devido à desregulação da homeostase do cálcio¹³. Esta via foi estudada na Gangliosidose GMI, em que a acumulação de gangliósidos na membrana que associa o RE à mitocôndria (*Mitochondria-associated ER Membrane*, MAM), cuja função é a dissipação de cálcio entre os organelos através do canal *Inositol 1,4,5-triphosphate (IP3)-sensitive Ca^{2+} Channel*, interage com este canal levando à formação de um “megaporo” e ao aumento da transferência de cálcio para a mitocôndria¹⁷.

O excesso de cálcio promove a formação de ROS e a abertura do poro de permeabilidade transitória da mitocôndria, que liberta mediadores de apoptose como o citocromo C¹⁷.

Também na doença NP-C1 ocorre alteração da homeostase do cálcio, aspecto abordado em 4.1.

O stress oxidativo é um importante fator desencadeador de morte celular em diversas patologias, através do aumento da produção de ROS, originando-se um desequilíbrio entre a produção destes e os mecanismos antioxidantes da célula¹³. Alguns investigadores têm demonstrado também interligação entre a sobrecarga lisossomal e o stress oxidativo. Villani *et al.*¹⁸ observaram em ratos modelo da doença MPS IIIB (caracterizada por deterioração neurológica profunda) após um mês do nascimento, um aumento da produção de iões superóxido e da oxidação proteica no cerebelo. Após três meses, observaram aumento da peroxidação lipídica e da oxidação de DNA, sugerindo que o stress oxidativo é um dos mecanismos que estão na base da neurodegenerescência nesta DLS. Shen *et al.*¹⁹ também demonstraram, em células do endotélio vascular de indivíduos com doença de Fabry, que a sobrecarga de globotriosilceramida induz a produção de ROS. Fu *et al.*²⁰ também identificaram stress oxidativo na doença NP-C1 através da análise de determinados marcadores de stress oxidativo no soro de doentes.

O stress oxidativo, por sua vez, pode ser desencadeado pelo stress do RE, pela desregulação do cálcio e também pela desregulação da autofagia. A autofagia é um processo regulado pelo qual os constituintes celulares danificados são recolhidos, degradados e reciclados, constituindo um importante processo de *turnover* celular e de fornecimento de energia durante condições de carência nutricional^{21,22}. Em situações de disfunção da autofagia, advindas da sobrecarga lisossomal, pode ocorrer a acumulação secundária de outras macromoléculas e organelos disfuncionais, entre os quais mitocôndrias, levando a desregulação da homeostase de cálcio, sobreprodução de ROS e à estimulação da apoptose^{21,22}. Este mecanismo foi proposto para a doença da Mucopolidose tipo IV, na qual se verificou através de fibroblastos de doentes, que uma ineficiente autofagia leva à acumulação de mitocôndrias na célula, deficiente regulação do cálcio e maior suscetibilidade à apoptose²².

Por conseguinte, todos estes eventos podem levar à ativação de processos inflamatórios através de vias de sinalização que ativam o sistema imunitário inato, nomeadamente macrófagos, na periferia do organismo, e a microglia, no SNC⁶. Uma das complicações mais deletérias da sobrecarga lisossomal é a neuroinflamação, devido ao constante estímulo da microglia, que leva à neurodegeneração e desmielinização neuronal²³. Ohmi *et al.*²⁴ em ratos com Síndrome de Hurler (MPS I) e MPS IIIB, confirmaram a importância

da microglia para o desenvolvimento das DLS. Também na LDM e na doença de Niemann-Pick tipo C (NP-C) se tem sugerido o envolvimento da microglia²⁴. A microglia constitui-se por células fagocíticas, residentes do SNC, que secretam moléculas pró-inflamatórias, tendo funções de defesa²⁴. Contudo, as moléculas pró-inflamatórias ao amplificarem a resposta inflamatória, podem causar danos neuronais²⁴. Ohmi *et al.*²⁴ observaram que a microglia, no cérebro de ratos MPS, apresenta um sistema lisossomal extremamente desenvolvido com presença de vesículas com gangliósidos no interior, possivelmente provenientes da endocitose de constituintes de neurónios danificados. Estas vesículas, segundo este estudo, vão aumentando em número ao longo do tempo. Ohmi *et al.*, verificaram também o aumento da quantidade de determinadas proteínas expressas por células do sistema imunitário inato, como a *Cluster of Differentiation 68* (CD 68), no córtex dos ratos MPS, antes do aparecimento dos sinais de doença, sugerindo que a neuroinflamação é um dos potenciadores destas DLS.

3.4 Epidemiologia

As DLS são doenças raras e clinicamente muito heterogéneas, levando a que se confundam com outras patologias, não sendo em todos os casos devidamente identificadas e diagnosticadas²⁵. Este tem sido um facto problemático para os estudos epidemiológicos, cujos valores poderão apresentar erros por defeito, dificultando a avaliação do impacto das DLS na população estudada²⁵.

As DLS são individualmente raras, contudo, no seu conjunto apresentam elevados valores de prevalência em determinados países. Além disso, algumas DLS, individualmente, apresentam elevada prevalência em determinados grupos étnicos. É o caso da Aspartilglucosaminúria, com uma percentagem de indivíduos heterozigóticos de 2,3 a 3% na população finlandesa e uma incidência de 54 em 100 000 indivíduos na mesma população⁶.

De acordo com Kingma *et al.*²⁶ a prevalência combinada entre Austrália, Holanda, Colúmbia Britânica, Portugal, República Checa e Emirados Árabes Unidos, varia entre os 7,5 por 100 000 nados vivos da Colúmbia Britânica e os 23,5 por 100 000 nados vivos dos Emirados Árabes Unidos, sendo que o grupo de DLS por deficiência enzimática mais prevalente identificado foi o das Esfingolipidoses, seguido pelo grupo das MPS.

Analisando unicamente os dados relativos às DLS em Portugal, denota-se que a prevalência conjunta de 29 DLS avaliadas, entre 1981 e 2001 por Pinto *et al.*²⁷, foi de 25 em 100 000 recém-nascidos, isto é, 1 em cada 4 000, valor mais elevado que a prevalência da fenilcetonúria (1/12 000) e que o hipotiroidismo congénito (1/6 000). A mais elevada prevalência verificou-se para a Gangliosidose GM 2, com um valor de 3 em 100 000 recém-

nascidos, ultrapassando os valores das DLS mais prevalentes da Austrália e da Holanda, doença de Gaucher (1,8/100 000) e Pompe (2/100 000), respetivamente²⁷.

Segundo o relatório de 2012 do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP. (INSA), em Portugal encontram-se em tratamento 8 tipos de DLS, 185 doentes no total²⁸ (Anexo I).

3.5 Estratégias terapêuticas

Nos últimos 30 anos desenvolveram-se várias estratégias terapêuticas direcionadas para cada evento que ocorre na cascata patogénica das DLS, encontrando-se vários medicamentos aprovados na Europa e vários medicamentos em ensaios clínicos (Anexo II e III).

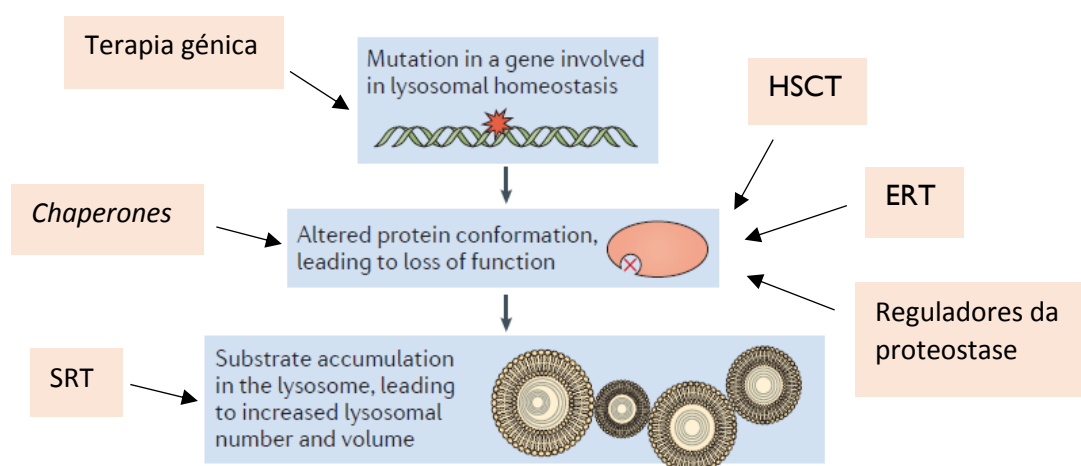


Fig. 4 Estratégias terapêuticas das DLS. HSCT, *Hematopoietic Stem Cell Transplantation*; ERT, *Enzyme-Replacement Therapy*; SRT, *Substrate Reduction Therapy* (Aftado de⁸).

3.5.1 Transplante de células estaminais hematopoiéticas

O Transplante de células estaminais hematopoiéticas (*Hematopoietic Stem Cell Transplantation*, HSCT), através do transplante de medula óssea, foi das primeiras estratégias implementadas para tratamento das DLS e a primeira a demonstrar sucesso em doentes com Síndrome de Hurler, em estadios menos avançados, continuando a ser a estratégia utilizada⁸.

As células estaminais hematopoiéticas são provenientes de um dador saudável (transplante alogénico)²⁹. O HSCT permite ao doente obter células capazes de produzir proteínas lisossomais normais na corrente sanguínea e passíveis de serem internalizadas pelas células afetadas²⁹. O Síndrome de Hurler deve-se à deficiência na enzima α -L-iduronidase, que

degrada glicosaminoglicanos²⁹. Em 1981, Hobbs *et al.*²⁹, realizaram um transplante de medula óssea, após terapêutica imunossupressora, numa criança com 1 ano de idade utilizando a mãe como dador. Após 13 meses, verificou-se a presença de atividade enzimática no soro e evidências da degradação de glicosaminoglicanos na urina. A criança demonstrou regressão de sintomas como hepatoesplenomegalia e melhoria no desenvolvimento. A HSCT passou a ser a estratégia terapêutica para estes doentes. Boelens *et al.*³⁰ realizaram uma análise retrospectiva em 258 crianças submetidas a HSCT, no qual verificaram *outcomes* encorajadores.

Apesar de tudo, o HSCT é um procedimento invasivo, requer compatibilidade entre dador e recetor, terapêutica imunossupressora, estando associado a elevada morbidade e mortalidade³⁰. Além disso, não tem demonstrado eficácia em muitas outras DLS⁸.

3.5.2 Substituição enzimática

Foi a partir do início dos anos 60, com a descoberta de que a doença de Gaucher se devia à deficiência na atividade de uma enzima, a β -glucosidase, que surgiu a terapêutica de substituição enzimática (*Enzyme-Replacement Therapy*, ERT)³¹. Alglucerase (Ceredase[®], Genzyme Corporation), foi o primeiro medicamento orfão para as DLS, nomeadamente a doença de Gaucher tipo I, aprovado pela FDA em 1991³¹.

A ERT consiste na reposição de uma enzima que se encontra em falta nas células afetadas, tendo como base o mecanismo de endocitose mediada por recetor³². A maioria das proteínas são reconhecidas pelos resíduos de M6P, as células internalizam-nas e direcionam-nas especificamente ao sistema E/L, onde são reconhecidas pelo recetor M6P³². A β -glucosidase não apresenta resíduos de M6P na sua estrutura. Assim esta enzima tem de ser modificada de forma a expôr os resíduos de manose, aumentando a eficácia de internalização por macrófagos (um dos tipos de células mais afetado)³².

No Ceredase[®] a enzima era purificada a partir de células da placenta humana. Atualmente, a técnica foi substituída pela produção de enzimas recombinantes a partir de Células de Ovário de Hamster chinês (*Chinese Hamster Ovary*, CHO), no qual é expresso DNA complementar lisossomal (cDNA) em grande escala. A atual terapêutica, o Imiglucerase (Cerezyme[®], Genzyme Corporation) é obtido por esta via³².

A ERT está aprovada para várias DLS (Anexo II). A grande limitação é a biodisponibilidade das enzimas recombinantes, que são moléculas de grandes dimensões, não conseguindo atravessar membranas de alguns tecidos, em particular a barreira hematoencefálica (BHE), sendo apenas eficaz na doença de Gaucher tipo I, a não

neuropática^{3,6,8,38}. É administrada por via endovenosa, sendo possível tratar apenas sintomas periféricos^{3,6,8,38}. Alterações a nível molecular encontram-se em estudo, assim como outras vias de administração, como a via intracerebroventricular e a via intratecal^{3,6,8,38}. Outra limitação é o risco de uma resposta imunitária do organismo do doente contra a enzima administrada, que não ocorre na doença de Gaucher tipo I, uma vez que existem quantidades residuais da enzima no organismo dos doentes^{3,6,8,38}.

3.5.3 Moléculas que atuam como *Chaperones*

Esta estratégia terapêutica baseia-se na utilização de moléculas *chaperones*, obtidas quimicamente, que permitem estabilizar uma proteína disfuncional originada essencialmente por mutações *missense*, evitando a sua degradação, permitindo o seu direcionamento e atividade ao nível do sistema E/L³.

Esta estratégia terapêutica divide-se entre moléculas que inibem o local ativo de determinadas proteínas lisossomais e moléculas que funcionam como modulador alostérico^{6,8}. Atualmente, encontra-se no mercado um fármaco, pertencente ao primeiro grupo, especificamente dedicado à doença de Fabry e capaz de atravessar a BHE^{6,8}. Esta molécula, designada de Migalastat (Galafold[®], Amicus Therapeutics UK Ltd.), administrada por via oral, mimetiza o substrato da enzima α -galactosidase A, liga-se ao seu local ativo e permite a sua estabilização. O local ativo mantém-se estável mesmo após a dissociação desta molécula^{6,8}. É importante que a dissociação ocorra facilmente para que a enzima possa exercer a sua atividade catalítica e para que o fármaco possua potencial terapêutico^{6,8}. Esta terapêutica é específica apenas para mutações que não afetam o local ativo da enzima, isto é 313 das mais de 1000 mutações que podem ocorrer no gene da enzima α -galactosidase A (GLA), sendo eficaz em 35 a 50% dos casos de doença diagnosticados³³. Como tal, a Amicus Therapeutics UK Ltd., criou uma tabela de suscetibilidade para o Galafold[®] online (disponível em³⁴).

De forma a comparar os efeitos do Migalastat com a ERT, Hughes *et al.*³⁵ realizaram um estudo no qual estudaram os efeitos deste fármaco na função renal, cardíaca, na eficácia de redução da acumulação de substrato, em doentes com doença de Fabry que estiveram previamente em tratamento com ERT, durante 18 meses. Os resultados foram comparáveis ao nível da função renal, mas verificou-se diminuição do índice de massa ventricular esquerda, o que é um bom *outcome*, uma vez que uma das manifestações mais frequentes da doença é a hipertrofia ventricular esquerda. Os níveis plasmáticos do substrato da enzima permaneceram reduzidos e estáveis após o início do tratamento com Migalastat. Concluiu-se assim, que o Migalastat é uma boa alternativa à ERT nos doentes com Fabry suscetível³⁵.

Para a doença de Gaucher, encontram-se a decorrer ensaios clínicos com Ambroxol, um expectorante mucolítico, cuja atividade de *chaperone* foi identificada por Maegawa *et al.*³⁶ numa cultura de fibroblastos com a mutação. Estes investigadores verificaram que o Ambroxol liga-se ao local ativo e a locais não ativos da enzima β -glucosidase.

As *chaperones* que funcionam como modulador alostérico encontram-se em estudo. Estas moléculas ligam-se a locais distantes do local ativo da proteína anormal e permitem favorecer a conformação nativa e a sua funcionalidade, ultrapassando a limitação da especificidade para determinadas mutações que o Migalastat apresenta³⁷.

3.5.4 Redução de substrato

A terapêutica de redução de substrato (*Substrat Reduction Therapy*, SRT) consiste na utilização de um composto, de pequenas dimensões, inibidor de uma determinada etapa biossintética da macromolécula que se encontra em sobrecarga na célula³. Aplica-se em doenças cuja enzima apresente função residual, possibilitando assim o equilíbrio entre a síntese da macromolécula tóxica e a sua degradação³. Atualmente, encontram-se aprovados o Miglustat (Zavesca[®], Actelion Pharmaceuticals Ltd.) (abordado em 4.4.1), para a doença de Gaucher tipo I e para a doença de NP-C1 e o Eliglustat (Cerdelga[®], Genzyme Corporation) apenas para a doença de Gaucher tipo I⁸. Ambos os fármacos bloqueiam a enzima glucosilceramida sintase, envolvida no primeiro passo de síntese dos glicosíngolípídios. Esta reação ocorre no complexo de Golgi e traduz-se na transferência de glucose para a ceramida, com formação da glucosilceramida que é a molécula precursora de esfingolípídios e gangliósidos, os substratos que se acumulam nestas doenças^{8,38}.

A via de administração é a via oral, apresentando essa vantagem relativamente à ERT, contudo os *outcomes* terapêuticos são mais demorados. O Eliglustat atravessa a BHE, mas é rapidamente exportado pela glicoproteína P, não sendo eficaz em doenças neuropáticas³⁹.

Neste momento, encontram-se em ensaios clínicos fármacos que se baseiam nesta estratégia também para a doença de Fabry e MPS IIIB (Anexo II).

3.5.5 Reguladores da proteostase

Os reguladores da proteostase são moduladores da expressão genética de *Heat Shock Proteins* (HSP), nomeadamente a HSP 70^{40,41}. As HSP são um conjunto de proteínas conservadas evolutivamente, existentes em todas as células do organismo, que funcionam como *chaperones*. A sua expressão genética é aumentada em resposta ao stress celular, sendo a HSP 70 a

primeira proteína a ser sintetizada na célula^{40,41}. As principais funções das HSP são: i) participar na correta conformação de polipeptídeos recém-formados; ii) participar no transporte destes para os corretos compartimentos celulares; iii) impedir a agregação proteica; iv) estabilizar a membrana lisossomal^{40,41}. A estabilização da membrana lisossomal, segundo alguns estudos, é conseguida através da ligação da HSP 70 a um lípido abundante na membrana lisossomal, bis(monoacilglicero)fosfato (BMP)^{40,41}. Esta ligação protege a enzima esfingomielinase ácida da degradação pelas proteases lisossomais. A esfingomielinase ácida ao atuar na esfingomielina permite libertar ceramida que vai reduzir a permeabilidade da membrana lisossomal, prevenindo a sua rutura^{40,41}.

O Arimoclomol (abordado em 4.4.2) é um regulador da proteostase que se encontra em ensaios clínicos para a doença de NP-CI.

3.5.6 Terapia génica

A terapia génica tem por base a introdução, nas células do doente, de uma versão normal do gene mutado, de forma a que o organismo passe a produzir a proteína lisossomal em falta^{6,42}. Esta estratégia pode ser realizada através da transferência direta do gene inserido num vetor, por exemplo um vírus (vírus adeno-associado), *in vivo* normalmente por infusão endovenosa^{6,42}. Por outro lado, pode ser realizada através da transferência indireta do gene, igualmente inserido num vetor (lentivírus), *ex vivo* numa cultura de células estaminais autólogas. As células são reimplantadas no doente e vão produzir a proteína saudável nos tecidos afetados, nomeadamente no cérebro^{6,42}.

Vários estudos têm demonstrado que a terapia génica poderá ser uma alternativa viável para as DLS, uma vez que estas apresentam apenas alteração num único gene, passível de ser corrigida³. Além disso, requerem apenas um pequeno aumento da atividade funcional da proteína afetada para a obtenção de resultados benéficos a nível clínico³. Esta estratégia apresenta vantagens relativamente à ERT e à HSCT. Contrariamente à ERT, a terapia génica permite a produção contínua de enzimas estáveis na corrente sanguínea, diminuindo a frequência dos tratamentos e permitindo atuar no SNC. Contrariamente à HSCT, é mais eficaz em estadios avançados de doença e a questão da compatibilidade entre dador e recetor não se coloca^{3,42}.

A terapia génica para diversas DLS encontra-se em ensaios clínicos. No caso da LDM, está a ser estudada a técnica de transferência indireta⁴³. O ensaio clínico de fase I/II conduzido em três crianças com LDM, consistiu na utilização de um lentivírus para introduzir o gene ARSA funcional *in vitro* em células estaminais hematopoiéticas dos doentes e sua posterior

infusão endovenosa. Após dois anos, os doentes demonstraram elevados níveis de expressão de enzima arilsulfatase A funcional e redução da progressão da doença⁴³.

4. Doença de Niemann-Pick tipo C1

A doença de Niemann-Pick foi identificada pela primeira vez por Albert Niemann e Ludwig Pick, nos anos 20. Os conhecimentos acerca desta patologia têm-se desenvolvido, contudo, ainda não se encontram completamente esclarecidos. Esta doença divide-se em dois grupos:

- i) Esfingomielinoses (infantil, Niemann-Pick tipo A e juvenil, Niemann-Pick tipo B), devidas à mutação do gene *SPMD1*, que leva à deficiência da enzima esfingomielinase ácida;
- ii) Doença de NP-C, que se divide em NP-C1 e em NP-C2, consoante a mutação ocorra no gene *NPC1* ou no gene *NPC2*, responsáveis pela codificação de proteínas de transporte e ligação ao colesterol. 95% dos casos de NP-C devem-se a mutações no gene *NPC1*⁴⁴.

A doença de NP-C é sobretudo uma doença pediátrica com sintomas severos a nível neuronal, estimando-se uma incidência de 1 indivíduo por cada 120 000 nados vivos⁴⁴.

4.1 Patogénese celular e molecular

Como mencionado previamente, a doença de NP-C1 deve-se a uma mutação, maioritariamente *missense*, no gene *NPC1*. Este gene é responsável por codificar uma glicoproteína, NPC I, que faz parte da membrana externa de endossomas tardios e de lisossomas⁴⁴.

A NPC I é uma glicoproteína de grandes dimensões constituída por 1278 aminoácidos. Apresenta 13 domínios transmembranares, dos quais cinco fazem parte de um domínio “sensor” de esteróis, *Sterol-Sensing Domain (SSD)*^{44,45}. O SSD apresenta uma cavidade hidrofóbica de grandes dimensões que permite acomodar uma molécula de colesterol. Voltados para o lúmen lisossomal, existem dois domínios responsáveis por interações com outras proteínas – um domínio rico em cisteína, no qual ocorrem algumas das mutações, e um domínio com leucina na extremidade N-terminal, altamente conservado, que apresenta um local de ligação ao colesterol^{44,45}.

O colesterol transportado pela *Low Density Lipoprotein* (LDL) é endocitado pela célula e transportado até ao sistema E/L⁴⁵. Neste, o colesterol é libertado pela ação da lipase ácida lisossomal e liga, com elevada afinidade e estequiometria de 1:1, à proteína NPC *Intracellular Cholesterol Transporter 2* (NPC 2), uma proteína solúvel presente no lúmen lisossomal⁴⁵. A NPC 2 transporta o colesterol livre no interior do lisossoma até à membrana externa onde permite a ligação desta molécula ao domínio N-terminal da NPC 1, sendo transportada através do SSD. Assim, o colesterol é exportado para o RE ou inserido na membrana lipídica do endossoma tardio/lisossoma, podendo ser transferido para outras membranas celulares⁴⁵.

Uma mutação genética que leve a alteração da região SSD leva à deficiente maturação da NPC 1 e conseqüente degradação proteassomal, correspondendo a um percurso clínico mais severo da doença com acumulação de colesterol, mas também esfingomiéline, glicosfingolípídeos e esfingosina em diversos tecidos como o baço, o fígado e o SNC^{44,45,46}. Mutações ao nível do domínio de cisteína correspondem a percursos clínicos menos severos^{44,45,46}.

A visão de que o colesterol é o metabolito mais preponderante na acumulação que ocorre na doença NP-C1 tem sido questionada por vários autores, nomeadamente Evans et al.⁴⁷, devido à existência de outros materiais lipídicos. Num estudo de 2008, estes investigadores apresentaram a hipótese de que esta acumulação leva à desregulação do cálcio lisossomal. A cascata patológica após a inativação da proteína NPC 1 inicia-se com o aumento dos níveis de esfingosina, composto formado pela degradação de ceramida, não sendo, portanto, o colesterol o metabolito primário no despoletar da doença⁴⁷. No lúmen do lisossoma a esfingosina encontra-se protonada, pelo que necessita de um transportador para atravessar a membrana lisossomal, que tudo indica ser a proteína NPC 1⁴⁷. Quando esta proteína se encontra disfuncional, ocorre acumulação de esfingosina, que por sua vez inibe a captação de cálcio para o lisossoma e para o endossoma tardio⁴⁷. A ausência deste ião leva à inativação de proteínas dependentes de cálcio, por exemplo a anexina A2, envolvidas no transporte e fusão entre as membranas no sistema E/L⁴⁷. Secundariamente a estes eventos ocorre então a acumulação de colesterol, esfingomiéline e glicosfingolípídeos⁴⁷.

A acumulação de lípidos nas células leva a disfunção mitocondrial e a processos inflamatórios deletérios para o órgão afetado⁶. A doença de NP-C1 afeta particularmente as células de Purkinje no cerebelo, o gânglio da base e o tálamo, levando a distúrbios nas células neuronais como distrofia neuroaxonal e desmielinização⁴⁸. Além disso, pode levar à formação de tranças neurofibrilares, correlacionando-se com a doença de Alzheimer⁴⁸.

4.2 Manifestações clínicas e prognóstico

A NP-CI pode designar-se por uma doença neurovisceral, apresentando tanto envolvimento neurológico como envolvimento de órgãos periféricos⁴⁴.

Os primeiros sintomas podem surgir entre o período perinatal e a idade adulta (até aos 70 anos), sendo que a esperança de vida poderá ir desde alguns dias até acima de 60 anos. Contudo, na maioria dos casos os indivíduos não sobrevivem para além dos 10-25 anos de idade⁴⁴.

Ao nível do envolvimento neurológico, os indivíduos manifestam principalmente ataxia cerebelar, disartria, disfagia, demência progressiva, cataplexia (com ou sem narcolepsia), convulsões, distonia e, muito caracteristicamente, oftalmoplegia vertical supranuclear, *Vertical Supranuclear Gaze Palsy* (VSGP)⁴⁴. A VSGP é um sinal clínico útil para o diagnóstico da NP-CI, que se traduz na incapacidade de realizar o movimento rápido (“sacádico”) dos olhos verticalmente, devido a lesão supranuclear dos nervos motores oculares⁴⁹. Em doentes de idade adulta, podem também verificar-se distúrbios psiquiátricos⁴⁴.

A forma mais severa da doença neurológica ocorre por volta dos 8 meses de idade, na qual se verificam atrasos no desenvolvimento motor e hipotonia⁴⁴. Exceto no caso de indivíduos que nos primeiros dias de vida não resistem às complicações sistémicas (falência hepática ou respiratória), todos os doentes acabam por desenvolver doença neurológica, que se revela progressiva e fatal⁴⁴.

As manifestações clínicas a nível periférico são mais graves no período perinatal, podendo evidenciar-se hidrósia ou ascite fetal e icterícia colestática, normalmente fatal antes dos 6 meses de vida⁴⁴. Em período não perinatal, o prognóstico não é tão severo, verificando-se esplenomegalia ou hepatoesplenomegalia, que normalmente reverte com o passar do tempo. A afeção da componente respiratória poderá levar a estados mais agravados, porém não é frequente⁴⁴ (Anexo IV).

4.3 Formas de Diagnóstico

O diagnóstico da doença de NP-CI inicia-se por uma avaliação primária do doente, de forma a eliminar a hipótese de outro tipo de doença, com a realização da história clínica, exame físico, exame neurológico (avaliação do tónus e força musculares, reflexos motores e de deglutição, avaliação do movimento), exame oftalmológico (avaliação da velocidade de movimento sacádico ocular, para despiste de VSGP) e análise laboratorial de rotina^{44,50,51}. Num doente com NP-C, os resultados analíticos podem evidenciar trombocitopenia e aumento dos

valores das transaminases (aspartato aminotransferase, ASAT e alanina aminotransferase, ALAT), diminuição de colesterol LDL e HDL plasmáticos e aumento de triglicerídeos. Porém estes valores não apresentam especificidade para a NP-C^{44,50,51}.

Inicialmente, o teste de diagnóstico mais específico, sensível, considerado *golden standard* para a doença de NP-C, era o teste *Filipin*^{44,50,51}. O teste *Filipin* consiste na realização de uma cultura de fibroblastos da pele do doente em meio enriquecido com LDL, na qual, após fixação, se adiciona filipina (um composto fluorescente à luz ultravioleta que complexa especificamente colesterol não esterificado)^{44,50,51}. A cultura é posteriormente analisada ao microscópio de fluorescência, sendo o resultado considerado positivo se se observarem, em cultura, fibroblastos com inúmeras vesículas perinucleares fluorescentes, que confirmam a acumulação de colesterol livre no seu interior^{44,50,51}. Contudo, segundo novas *guidelines*, deixou de ser o teste preferencial uma vez que requer técnicas invasivas para o doente, é demorado e requer equipamento especializado^{52,53}.

Atualmente, é recomendada a detecção plasmática por espectrometria de massa de marcadores bioquímicos que demonstraram ser específicos para a doença de NP-CI, os oxisteróis, originados pela oxidação não enzimática de colesterol durante o stress oxidativo; e lisoesfingolípidos, moléculas que se encontram acumuladas no sistema E/L das células^{52,53}.

A determinação da sequência de nucleótidos no DNA nuclear é utilizada em caso de resultados inconclusivos na avaliação dos biomarcadores plasmáticos e é o único meio para o diagnóstico pré-natal⁵². A determinação da sequência de nucleótidos no DNA nuclear deve ser realizada para todos os exões do gene NPC 1 (localizado no cromossoma 18) e do gene NPC 2 (localizado no cromossoma 14), pois não é possível determinar a localização da mutação *à priori*^{44,50,51}.

4.4 Terapêutica para a NP-CI

Até à data, ainda não existem estratégias terapêuticas que levem à cura da doença de NP-C, mas apenas à melhoria de alguns sintomas, com o uso de fármacos antiepiléticos, fármacos anticolinérgicos, antidepressivos, fisioterapia e terapia ocupacional⁴⁴.

No ano de 2009 foi aprovado pela *European Medicines Agency* (EMA) o primeiro fármaco capaz de atrasar o aparecimento de sintomas neurológicos severos nestes doentes, o Miglustat (Zavesca[®]), da empresa farmacêutica Actelion Pharmaceuticals Ltd. No entanto, não foi ainda aprovado nenhum fármaco específico para esta doença pela *Food and Drug Administration* (FDA).

Com o avanço do conhecimento acerca dos mecanismos moleculares que estão na base da doença de NP-CI, novas estratégias terapêuticas vão surgindo. No ponto 4.4.2 da presente monografia, são referidos alguns exemplos de ensaios clínicos.

4.4.1 Redução de Substrato - Miglustat (Zavesca®)

O Miglustat (Zavesca®) é um imino-açúcar designado quimicamente por N-butil-1-desoxinojirimicina (Fig. 5), que foi inicialmente desenvolvido para atuar como inibidor da replicação do vírus da imunodeficiência humana (HIV), porém sem sucesso em ensaios clínicos⁵⁴.

Em 1994 Platt *et al.*⁵⁶ verificou que esta molécula tinha potencial para inibir *in vitro* a enzima glucosilceramida sintase, envolvida no primeiro passo da via de biossíntese de glicosíngolípidos, evitando assim a acumulação destes em células de um modelo da doença de Gaucher.

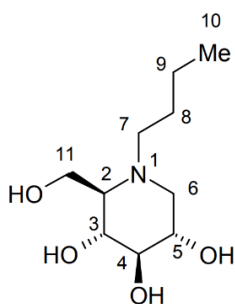


Fig. 5 - Estrutura química do N-butil-1-desoxinojirimicina (Miglustat)⁵⁵.

Posteriormente, sabendo que os glicosíngolípidos teriam também um papel importante na lesão celular que ocorre na doença de NP-CI, estudou-se o Miglustat em modelos animais com esta doença (ratos e gatos) e verificaram-se resultados favoráveis na diminuição da acumulação de gangliósidos no córtex cerebral e no cerebelo, no retardar do aparecimento dos primeiros sintomas neurológicos e no aumento da sobrevivência em 30%⁵⁷.

Seguiram-se, então, ensaios em humanos, nos quais se confirmaram a eficácia e a segurança desta substância em crianças (dos 4 aos 11 anos), jovens e adultos. Após 12 meses observou-se melhoria da velocidade de movimento “sacádico” ocular, de capacidade de deglutição e de cognição⁵⁸. Após uma extensão deste estudo (para mais 12 meses), em indivíduos de 12 ou mais anos, verificou-se a estabilização dos sintomas em 68% dos doentes que receberam o tratamento⁵⁹. Os efeitos adversos mais frequentes foram diarreia, perda de peso, flatulência e tremores⁵⁹, pelo que não é recomendada a sua administração em doentes apenas com manifestações sistêmicas⁶⁰.

O Zavesca[®] está autorizado para comercialização na Europa, como medicamento órfão com indicação terapêutica na doença de Gaucher, desde 2002. Em 2009 foi aprovada uma extensão de Autorização de Introdução no Mercado para a indicação terapêutica na doença de NP-C1⁶¹.

4.4.2 Terapêutica em ensaios clínicos

4.4.2.1 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina

As ciclodextrinas consistem em oligossacarídeos cíclicos constituídos por moléculas de α -D-glucopiranosose ligadas através de ligações glicosídicas α -1,4, apresentando uma forma tronco-cônica. As β -ciclodextrinas apresentam sete unidades de glicose⁶². Estas moléculas têm a capacidade de formar complexos com moléculas lipofílicas, que incorporam no interior da sua cavidade hidrofóbica⁶². Como superficialmente têm caráter hidrofílico, devido a grupos hidroxilo posicionados externamente, permitem solubilizar em meio aquoso as moléculas que integram⁶².

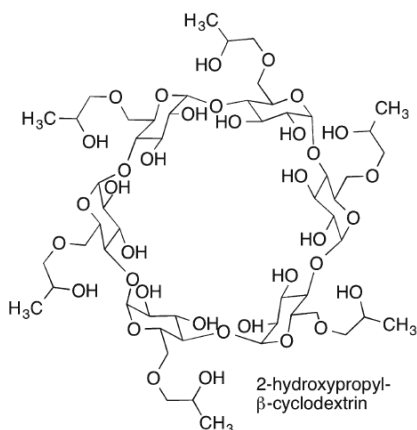


Fig. 6 - Estrutura química da 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina⁶⁵.

Em vários estudos realizados, entre os quais um estudo de Davidson *et al.*⁶³ e um estudo de Liu *et al.*⁶⁴, verificou-se que a 2-Hidroxiopropil- β -ciclodextrina (HP β CD) (Fig. 6) tinha efeitos benéficos a nível neurológico em modelos animais de NP-C1.

Davidson *et al.*⁶³ demonstraram que, durante duas semanas de tratamento com HP β CD, ratos NP-C1 com 22 dias apresentaram: i) redução significativa de acumulação de colesterol não esterificado e gangliósidos; ii) maior área do cerebelo contemplada por células de Purkinje (Fig. 7); iv) maior tempo de vida médio (118 dias) comparativamente a ratos não sujeitos a tratamento (79 dias).

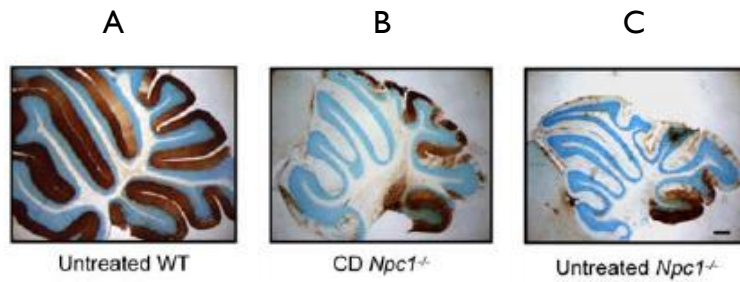


Fig. 7 – Corte histológico de cerebelo de rato *wild type* (A), com mutação NPC1 após tratamento com HPβCD (B), com mutação NPC1 sem tratamento (C). A área a castanho representa as células de Purkinje (Adaptado de⁶³).

A administração crónica de HPβCD nos ratos NP-CI atrasou o aparecimento dos sinais de ataxia e de perda de peso⁶³. Além disso, os investigadores verificaram a diminuição da proteína CD68 (marcador de neuroinflamação) nos ratos em estadios avançados de NP-CI⁶³.

Ainda neste estudo, concluiu-se que a associação de HPβCD com Alopregnanolona (um neuroesteróide endógeno que se encontra deficitário no SNC dos ratos com fenótipo de NP-CI) e Miglustat demonstra benefícios em todos os parâmetros anteriormente referidos⁶³.

Liu *et al.*⁶⁴ verificaram que apenas uma dose de HPβCD, administrada por via subcutânea em ratos NP-CI com sete dias de idade, prolongou o tempo de vida médio (de aproximadamente 90 dias para 110 dias) e levou a uma diferença considerável no número de células de Purkinje no cerebelo dos animais, aos 49 dias, comparativamente a ratos não sujeitos a tratamento (Fig. 8).

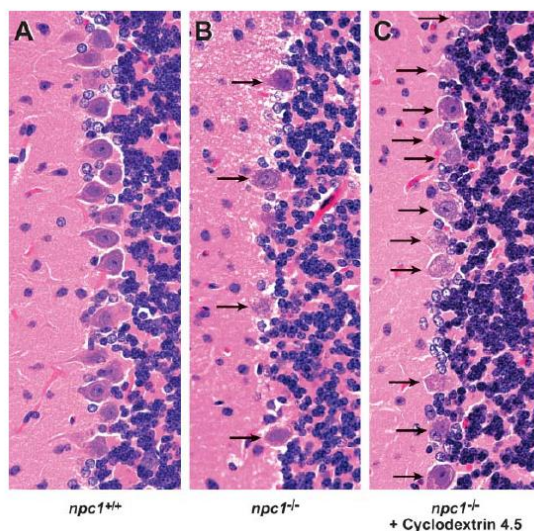


Fig. 8 – Observação histológica de cerebelo de rato sem mutação em NPC1 (A), com mutação em NPC1 sem tratamento (B), com mutação em NPC1 após uma única injeção aos 7 dias de vida com HPβCD (C). As setas representam as células de Purkinje⁶⁴.

Em 2013, foi designado medicamento órfão pela *European Commission to International Niemann-Pick Disease Alliance (INPDA)* e iniciaram-se os primeiros ensaios em humanos no *National Institutes of Health (NIH)*, tendo completado com sucesso a fase I/ IIa (segurança e eficácia)⁶⁶. Estes ensaios demonstraram que, a administração de HPβCD por via intratecal abrandou a progressão da doença a nível neurológico em doentes com NP-CI⁶⁶. Atualmente encontra-se na fase IIb/ III, que tem o objetivo de determinar quais os sintomas mais responsivos ao tratamento, definir a dose e a posologia e ser um ponto de partida para a obtenção de aprovação pelas entidades reguladoras⁶⁶.

Recentemente, Singhal e colaboradores⁶⁷ propuseram um novo mecanismo de ação para a HPβCD. Através de uma análise proteómica observaram que esta molécula tem a capacidade de regular a expressão de proteínas envolvidas em diversas funções celulares, entre elas a LAMP-1, uma das proteínas de membrana lisossomal mais abundantes⁶⁷. Além disso, verificaram que a LAMP-1 tem potencial para, tal como a NPC I, transportar colesterol livre para o citosol, contribuindo para a sua homeostase na ausência da NPC I⁶⁷.

Apesar da sua eficácia, a HPβCD apresenta fraca biodisponibilidade, não atravessando a BHE⁶⁸. Obriga assim a administração direta no SNC por via intratecal⁶⁸.

4.4.2.2 Regulação da proteostase – Arimoclomol

O Arimoclomol é um derivado da hidroxilamina cujo mecanismo de ação é ativar o fator de transcrição *Heat Shock Factor 1 (HSF1)*, que regula a expressão de HSP nas células, nomeadamente a HSP 70⁶⁹.

Foi testado em fibroblastos de um doente com NP-CI, resultando numa significativa redução do armazenamento de colesterol não esterificado⁴¹. Posteriormente, em ratos NP-CI, demonstrou redução no aparecimento de ataxia e um aumento do tempo de vida médio dos animais em 17%⁴¹. Os animais não sujeitos a tratamento apresentaram baixos níveis de ativação de HSF1 e de HSP 70, a nível hepático e cerebral, enquanto que, em animais que receberam o Arimoclomol, os níveis de HSP 70 aumentaram, principalmente no cérebro, confirmando o seu potencial neuroprotetor⁴¹.

Foram iniciados ensaios clínicos de fase II/III em doentes com NP-C, levados a cabo pela Orphazyme, nos quais se verificou recentemente 74% de redução da progressão de sintomas⁶⁹. Durante o ano de 2019 serão anunciados os resultados completos destes ensaios⁶⁹.

O Arimoclomol apresenta desde 2014 a designação de medicamento órfão, para a doença de NP-C, atribuída pela EMA⁷⁰.

4.4.2.3 Vorinostat

Vorinostat é um inibidor das histona deacetilases (*Histone Deacetylase Inhibitors*, HDACi) classe I e II, através de ligação aos locais catalíticos destas enzimas⁷¹. Encontra-se aprovado pela FDA e pela EMA para o tratamento do linfoma cutâneo das células T, estando atualmente em ensaios clínicos em doentes adultos com NP-CI^{71,72}.

De acordo com um estudo de Pipalia *et al.*⁷³, os inibidores da histona deacetilase são eficazes na redução de colesterol em fibroblastos humanos com NP-CI. O mecanismo proposto por estes investigadores é o aumento da expressão da proteína NPC I, que verificaram estar aumentada em linhas celulares de NP-CI após tratamento com HDACi. Na base deste mecanismo está o facto de o gene NPC1 sofrer maioritariamente mutações *missense*, que levam à tradução de uma proteína de conformação disfuncional no RE e consequente degradação pelo sistema ubiquitina-proteassoma⁷³. Os HDACi possibilitam a acetilação de várias proteínas incluindo *chaperones*, que promovem a correta conformação da proteína NPC I, a saída desta proteína do RE e o seu transporte para o sistema E/L⁷³. O aumento da proteína NPC I na membrana de endossomas tardios e lisossomas leva à saída de colesterol armazenado nestes organelos e ao seu aumento no RE, desencadeando um mecanismo de sinalização celular⁷³. Ocorre inibição do processamento do fator de transcrição *sterol-responsive element binding protein-2* (SREBP2) no complexo de Golgi, ficando retido no RE⁷³. Este fator de transcrição leva à expressão genética do recetor de LDL na célula. Assim, não ocorrendo ativação deste fator de transcrição, diminui o uptake de colesterol LDL, reduzindo a sua acumulação e promovendo a homeostase de colesterol⁷³.

Subramanian *et al.*⁷¹, partindo do pressuposto de que as histona deacetilases (*Histone Deacetylase*, HDAC) deacetilam histonas, levando à compactação do DNA e à repressão da transcrição, realizaram um estudo proteómico para perceber que impacto tem a ação do Vorinostat ao inibir estas enzimas. Este HDACi reverte a compactação do DNA, aumentando a expressão de várias proteínas com diferentes funções na célula relacionadas com: metabolismo energético; stress oxidativo; conformação, degradação e transporte de proteínas entre compartimentos celulares; e metabolismo lipídico⁷¹. Além disso, previne a degradação dessas proteínas, uma vez que a acetilação inibe a ligação à ubiquitina e posterior degradação proteassomal⁷¹.

5. Conclusão

Nas últimas décadas, tem havido um grande progresso no conhecimento dos mecanismos celulares e moleculares envolvidos nas DLS, assim como dos mecanismos secundários despoletados pela sobrecarga lisossomal. Este progresso, deve-se em grande parte ao desenvolvimento da investigação em torno do lisossoma, do sistema E/L e do transporte vesicular. Importa referir que, atualmente a indústria farmacêutica encontra-se mais dedicada na procura de soluções para os doentes com DLS graças, quer a incentivos regulamentares, quer aos resultados encorajadores que têm demonstrado os ensaios pré-clínicos e clínicos realizados.

Apesar de já existirem estratégias terapêuticas eficazes no controlo da progressão das DLS, é importante que os estudos nesta área não cessem, uma vez que ainda existem DLS sem qualquer alternativa terapêutica e, mesmo nas doenças em que existe, nem todos os doentes apresentam os *outcomes* desejados. Assim, os investigadores têm tentado apostar na procura de uma interligação entre as DLS, de modo a encontrar uma estratégia terapêutica comum e eficaz para todos os doentes. A associação entre várias estratégias também tem sido alvo de estudo.

A doença de NP-CI, em particular, para a qual não existia nenhuma terapêutica específica, viu a sua realidade alterar-se com o aparecimento do Miglustat e a sua aprovação para comercialização na Europa. O Miglustat permitiu diminuir a progressão da doença neurodegenerativa de forma surpreendente, uma vez que transpõe a BHE, não necessitando assim de técnicas de administração invasivas.

Apesar dos resultados eficazes do Miglustat, a ambição na procura de alternativas com base noutros alvos terapêuticos, com melhores *outcomes* e menos efeitos secundários é de extrema importância. Três alternativas encontram-se neste momento em ensaios clínicos, pelo que ainda não existem dados concretos sobre a sua eficácia em determinados *endpoints*. No entanto, a empresa farmacêutica Orphazyme, revelou recentemente que, devido aos resultados positivos observados nos ensaios clínicos, a previsão para a aprovação do Arimoclomol para a doença de NP-C será o ano de 2020.

6. Referências Bibliográficas

1. AZEVEDO, Carlos *et al.* - **Biologia Celular e Molecular**. 4.^a Edição. Lidel, 2005. ISBN 972-757-354-1.
2. SETTEMBRE, Carmine; FRALDI, Alessandro; MEDINA, Diego L.; BALLABIO, Andrea - **Signals from the lysosome: A control centre for cellular clearance and energy metabolism**. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 14:5 (2013) 283–296.
3. PARENTI, Giancarlo; ANDRIA, Generoso; BALLABIO, Andrea - **Lysosomal Storage Diseases: From Pathophysiology to Therapy**. *Annual Review of Medicine*. 66:1 (2015) 471–486.
4. MEEL, Eline VAN; KLUMPERMAN, Judith - **Imaging and imagination: Understanding the endo-lysosomal system**. *Histochemistry and Cell Biology*. 129:3 (2008) 253–266.
5. PERERA, Rushika M.; ZONCU, Roberto - **The Lysosome as a Regulatory Hub**. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 32:1 (2016) 223–253.
6. PLATT, Frances M.; D’AZZO, Alessandra; DAVIDSON, Beverly L.; NEUFELD, Elizabeth F.; TIFFT, Cynthia J. - **Lysosomal storage diseases**. *Nature Reviews Disease Primers*. (2018) 1–25.
7. LUZIO, J. Paul; PRYOR, Paul R.; BRIGHT, Nicholas A. - **Lysosomes: Fusion and function**. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 8:8 (2007) 622–632.
8. PLATT, Frances M. - **Emptying the stores: Lysosomal diseases and therapeutic strategies**. *Nature Reviews Drug Discovery*. 17:2 (2018) 133–150.
9. FUTERMAN, Anthony H.; MEER, Gerrit VAN - **The cell biology of lysosomal storage disorders**. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 5:7 (2004) 554–565.
10. COUTINHO, Maria Francisca; DUARTE, Ana Joana; MATOS, Liliana; SANTOS, Juliana Inês; AMARAL, Olga; ALVES, Sandra - **Doenças lisossomais de sobrecarga em Portugal: 10 anos de experiência em estudos moleculares no INSA (2006-2016)**. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. *Doenças metabólicas* (2016) 16–20.
11. BRADY, Roscoe; KANFER, Julian; MOCK, Michael; FREDRIKSON, Donald - **The Metabolism of Sphingomyelin, II. Evidence of an enzymatic Deficiency in Niemann-Pick Disease**. *Biochemistry*. 55 (1966) 366–369.
12. KOCHUMON, Sheena P.; YESODHARAN, Dhanya; VINAYAN, K. P.; RADHAKRISHNAN, Natasha; SHETH, Jayesh J.; NAMPOOTHIRI, Sheela - **GM2 activator protein deficiency, mimic of Tay-Sachs disease**. *International Journal of Epilepsy*. 4:2 (2017) 184–187.
13. VITNER, Einat B.; PLATT, Frances M.; FUTERMAN, Anthony H. - **Common and uncommon pathogenic cascades in lysosomal storage diseases**. *Journal of Biological Chemistry*. 285:27 (2010) 20423–20427.
14. IRAHARA-MIYANA, Kaori; OTOMO, Takanobu; KONDO, Hidehito; HOSSAIN, Mohammad Arif; OZONO, Keiichi; SAKAI, Norio - **Unfolded protein response is**

activated in Krabbe disease in a manner dependent on the mutation type. Journal of Human Genetics. 63:6 (2018) 699–706.

15. TESSITORE, Alessandra; MARTIN, Maria P.; SANO, Renata; MA, Yanjun; MANN, Linda; INGRASSIA, Angela; LAYWELL, Eric D.; STEINDLER, Dennis A.; HENDERSHOT, Linda M.; AZZO, Alessandra - **GMI-Ganglioside-Mediated Activation of the Unfolded Protein Response Causes Neuronal Death in a Neurodegenerative Gangliosidosis.** Cell Press. 15 (2004) 753–766.

16. WONG, Madeline *et al.* - **Adapting Secretory Proteostasis and Function Through the Unfolded Protein Response Madeline.** Microbiology and Immunology. 3 (2017).

17. SANO, Renata; ANNUNZIATA, Ida; PATTERSON, Annette; MOSHIACH, Simon; GOMERO, Elida; OPFERMAN, Joseph; FORTE, Michael; D'AZZO, Alessandra - **GMI-Ganglioside Accumulation at the Mitochondria-Associated ER Membranes Links ER Stress to Ca²⁺-Dependent Mitochondrial Apoptosis.** Molecular Cell. 36:3 (2009) 500–511.

18. VILLANI, Guglielmo R. D.; DOMENICO, Carmela Di; MUSELLA, Annapaola; CECERE, Francesca; NAPOLI, Daniele Di; NATALE, Paola Di - **Mucopolysaccharidosis IIIB: Oxidative damage and cytotoxic cell involvement in the neuronal pathogenesis.** Brain Research. 1279:2009) 99–108.

19. SHEN, Jin Song; MENG, Xing Li; MOORE, David F.; QUIRK, Jane M.; SHAYMAN, James A.; SCHIFFMANN, Raphael; KANESKI, Christine R. - **Globotriaosylceramide induces oxidative stress and up-regulates cell adhesion molecule expression in Fabry disease endothelial cells.** Molecular Genetics and Metabolism. 95:3 (2008) 163–168.

20. FU, Rao; YANJANIN, Nicole M.; BIANCONI, Simona; PAVAN, William J.; PORTER, Forbes D. - **Oxidative stress in Niemann-Pick disease, type C.** Molecular Genetics and Metabolism. 101:2–3 (2010) 214–218.

21. KISELYOV, Kirill *et al.* - **Autophagy, mitochondria and cell death in lysosomal storage diseases.** Autophagy. 3:3 (2007) 259–262.

22. JENNINGS, John J.; ZHU, Jian Hui; RBAIBI, Youssef; LUO, Xiang; CHU, Charleen T.; KISELYOV, Kirill - **Mitochondrial aberrations in mucopolipidosis type IV.** Journal of Biological Chemistry. 281:51 (2006) 39041–39050.

23. BELLETTATO, Cinzia Maria; SCARPA, Maurizio - **Pathophysiology of neuropathic lysosomal storage disorders.** Journal of Inherited Metabolic Disease. 33:4 (2010) 347–362.

24. OHMI, K.; GREENBERG, D. S.; RAJAVEL, K. S.; RYAZANTSEV, S.; LI, H. H.; NEUFELD, E. F. - **Activated microglia in cortex of mouse models of mucopolysaccharidoses I and IIIB.** Proceedings of the National Academy of Sciences. 100:4 (2003) 1902–1907.

25. FULLER, Maria; MEIKLE Peter J.; HOPWOOD, John J. - **Epidemiology of Lysosomal Storage Diseases: an overview.** Fabry Disease: Perspectives from 5 years of FOS. Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006. Chapter 2. [Acedido a 15 de janeiro de 2019] Disponível na Internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11603/>

26. KINGMA, Sandra D. K.; BODAMER, Olaf A.; WIJBURG, Frits A. - **Epidemiology and diagnosis of lysosomal storage disorders; Challenges of screening.** Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism. 29:2 (2015) 145–157.
27. PINTO, Rui *et al.* - **Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal.** European Journal of Human Genetics. 12:2 (2004) 87–92.
28. FORTUNA, Ana Maria - **Diagnóstico e Tratamento de Doenças Lisossomais.** (2014) 1–7.
29. HOBBS, J. R.; BARRETT, A. J.; CHAMBERS, D.; JAMES, D. C. O.; HUGH-JONES, K.; BYROM, N.; HENRY, K.; LUCAS, C. F.; ROGERS, T. R.; BENSON, P. F.; TANSLEY, L. R.; PATRICK, A. D.; MOSSMAN, J.; YOUNG, E. P. - **Reversal of Clinical Features of Hurler'S Disease and Biochemical Improvement After Treatment By Bone-Marrow Transplantation.** The Lancet. 318:8249 (1981) 709–712.
30. BOELEN, Jaap Jan; ALDENHOVEN, Mieke; PURTILL, Duncan; RUGGERI, Annalisa; DEFOR, Todd; WYNN, Robert; WRAITH, Ed; CAVAZZANA-CALVO, Marina; ROVELLI, Attilio; FISCHER, Alain; TOLAR, Jakub; PRASAD, Vinod K.; ESCOLAR, Maria; ... PARIKH, H. - **Outcomes of transplantation using various hematopoietic cell sources in children with Hurler syndrome after myeloablative conditioning.** Blood. 121:19 (2013) 3981–3987.
31. MECHLER, Konstantin; MOUNTFORD, William K.; HOFFMANN, Georg F.; RIES, Markus - **Pressure for drug development in lysosomal storage disorders - A quantitative analysis thirty years beyond the US orphan drug act.** Orphanet Journal of Rare Diseases. 10:1 (2015) 1–9.
32. DESNICK, R. J.; SCHUCHMAN, E. H. - **Enzyme Replacement Therapy for Lysosomal Diseases: Lessons from 20 Years of Experience and Remaining Challenges** [Acedido a 15 de janeiro de 2019] Disponível na Internet: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-genom-090711-163739>. ISBN 0907111637
33. AMICUS THERAPEUTICS, INC. - **Amicus Therapeutics Launches Galafold™ (Migalastat) for Treatment of Fabry Disease in Spain.** Jan. 17, 2018 [Acedido a 15 de janeiro de 2019] Disponível na Internet: <http://ir.amicusrx.com/news-releases/news-release-details/amicus-therapeutics-launches-galafoldtm-migalastat-treatment-2>
34. AMICUS THERAPEUTICS, INC. - **Galafold™ (migalastat) Amenability Table.** Out.,2018 [Acedido a 15 de janeiro de 2019] Disponível na Internet: <http://www.galafoldamenabilitytable.com/>
35. HUGHES, Derralynn A. *et al.* - **Oral pharmacological chaperone migalastat compared with enzyme replacement therapy in Fabry disease: 18-month results from the randomised phase III ATTRACT study.** Journal of Medical Genetics. 54:4 (2017) 288–296.
36. MAEGAWA, Gustavo H. B.; TROPAK, Michael B.; BUTTNER, Justin D.; RIGAT, Brigitte A.; FULLER, Maria; PANDIT, Deepangi; TANG, Lianglie; KORNHABER, Gregory J.;

- HAMURO, Yoshitomo; CLARKE, Joe T. R.; MAHURAN, Don J. - **Identification and characterization of ambroxol as an enzyme enhancement agent for Gaucher disease.** *Journal of Biological Chemistry.* 284:35 (2009) 23502–23516.
37. CITRO, Valentina; PEÑA-GARCÍA, Jorge; DEN-HAAN, Helena; PÉREZ-SÁNCHEZ, Horacio; PRETE, Rosita DEL; LIGUORI, Ludovica; CIMMARUTA, Chiara; LUKAS, Jan; CUBELLIS, Maria Vittoria; ANDREOTTI, Giuseppina - **Identification of an allosteric binding site on human lysosomal alpha-galactosidase opens the way to new pharmacological chaperones for Fabry disease.** *PLoS ONE.* 11:10 (2016) 1–15.
38. D'ANGELO, Giovanni; CAPASSO, Serena; STICCO, Lucia; RUSSO, Domenico - **Glycosphingolipids: Synthesis and functions.** *FEBS Journal.* 280:24 (2013) 6338–6353.
39. 4. SHAYMAN, James - **The Design and Clinical Development of Inhibitors of Glycosphingolipid Synthesis: Will Invention Be the Mother of Necessity?.** *Inhibitors of Glycosphingolipid Synthesis.* 124 (2013) 46–60.
40. PETERSEN, Nikolaj H. T.; KIRKEGAARD, Thomas - **HSP70 and lysosomal storage disorders: novel therapeutic opportunities.** *Biochemical Society Transactions.* 38:6 (2010) 1479–1483.
41. KIRKEGAARD, Thomas *et al.* - **Heat shock protein-based therapy as a potential candidate for treating the sphingolipidoses.** *Science Translational Medicine.* 8:355 (2016).
42. PENATI, Rachele; FUMAGALLI, Francesca; CALBI, Valeria; BERNARDO, Maria Ester; AIUTI, Alessandro - **Gene therapy for lysosomal storage disorders: recent advances for metachromatic leukodystrophy and mucopolysaccharidosis I.** *Journal of Inherited Metabolic Disease.* 40:4 (2017) 543–554.
43. BIFFI, Alessandra; MONTINI, Eugenio; LORIOLI, Laura; CESANI, Martina; FUMAGALLI, Francesca; PLATI, Tiziana; BALDOLI, Cristina; MARTINO, Sabata; CALABRIA, Andrea; CANALE, Sabrina; BENEDICENTI, Fabrizio; VALLANTI, Giuliana; BIASCO, Luca; ... NALDINI, Luigi - **Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy benefits metachromatic leukodystrophy.** *Science.* 341:6148 (2013).
44. VANIER, Marie T. - **Niemann-Pick disease type C.** *Orphanet Journal of Rare Diseases.* 5:16 (2010) 1–18.
45. LI, Xiaochun; WANG, Jiawei; COUTAVAS, Elias; SHI, Hang; HAO, Qi; BLOBEL, Günter - **Structure of human Niemann–Pick C1 protein.** *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 113:29 (2016) 8212–8217.
46. GELSTHORPE, Mark E.; BAUMANN, Nikola; MILLARD, Elizabeth; GALE, Sarah E.; LANGMADE, S. Joshua; SCHAFFER, Jean E.; ORY, Daniel S. - **Niemann-Pick type C1 I1061T mutant encodes a functional protein that is selected for endoplasmic reticulum-associated degradation due to protein misfolding.** *Journal of Biological Chemistry.* 283:13 (2008) 8229–8236.
47. LLOYD-EVANS, Emyr; MORGAN, Anthony J.; HE, Xingxuan; SMITH, David A.; ELLIOT-

SMITH, Elena; SILENCE, Daniel J.; CHURCHILL, Grant C.; SCHUCHMAN, Edward H.; GALIONE, Antony; PLATT, Frances M. - **Niemann-Pick disease type C1 is a sphingosine storage disease that causes deregulation of lysosomal calcium**. *Nature Medicine*. 14:11 (2008) 1247–1255.

48. EVANS, William R. H.; HENDRIKSZ, Chris J. - **Niemann-Pick type C disease – the tip of the iceberg? A review of neuropsychiatric presentation, diagnosis and treatment**. *BJPsych Bulletin*. 41:02 (2017) 109–114.

49. SALSANO, Ettore; UMEH, Chizoba; RUFA, Alessandra; PAREYSON, Davide; ZEE, David S. - **Vertical supranuclear gaze palsy in Niemann-Pick type C disease**. *Neurological Sciences*. 33:6 (2012) 1225–1232.

50. PATTERSON, Marc C.; HENDRIKSZ, Christian J.; WALTERFANG, Mark; SEDEL, Frederic; VANIER, Marie T.; WIJBURG, Frits - **Recommendations for the diagnosis and management of Niemann-Pick disease type C: An update**. *Molecular Genetics and Metabolism*. 106:3 (2012) 330–344.

51. WRAITH, James E.; BAUMGARTNER, Matthias R.; BEMBI, Bruno; COVANIS, Athanasios; LEVADE, Thierry; MENGEL, Eugen; PINEDA, Mercè; SEDEL, Frédéric; TOPÇU, Meral; VANIER, Marie T.; WIDNER, Hakan; WIJBURG, Frits A.; PATTERSON, Marc C. - **Recommendations on the diagnosis and management of Niemann-Pick disease type C**. *Molecular Genetics and Metabolism*. 98:1–2 (2009) 152–165.

52. GEBERHIWOT, Tarekegn *et al.* - **Consensus clinical management guidelines for Niemann-Pick disease type C**. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 13:1 (2018) 1–19.

53. BOENZI, Sara; DEODATO, Federica; TAURISANO, Roberta; MARTINELLI, Diego; VERRIGNI, Daniela; CARROZZO, Rosalba; BERTINI, Enrico; PASTORE, Anna; DIONISI-VICI, Carlo; JOHNSON, David W. - **A new simple and rapid LC-ESI-MS/MS method for quantification of plasma oxysterols as dimethylaminobutyrate esters. Its successful use for the diagnosis of Niemann-Pick type C disease**. *Clinica Chimica Acta*. 437:2014) 93–100.

54. TIERNEY, M., *et al.* - **The tolerability and pharmacokinetics of N-butyldeoxynojirimycin in patients with advanced HIV disease**. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. Dec 15; 10:5 (1995) 549–553.

55. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA) - **Scientific Discussion**. (2005) 1-27 [Acedido a 18 de janeiro de 2019] Disponível na Internet: https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-discussion/zavesca-epar-scientific-discussion_en.pdf

56. PLATT, Frances M.; NEISES, Gabrielle R.; DWEK, Raymond A.; BUTTERS, Terry D. - **N-butyldeoxynojirimycin is a novel inhibitor of glycolipid biosynthesis**. *Journal of Biological Chemistry*. 269:11 (1994) 8362–8365.

57. ZERVAS, Mark; SOMERS, Kyra L.; THRALL, Mary Anna; WALKLEY, Steven U. - **Critical role for glycosphingolipids in Niemann-Pick disease type C**. *Current Biology*. 11:16 (2001) 1283–1287.

58. PATTERSON, MC. *et al.* - **Miglustat for treatment of Niemann-Pick C disease: a randomised controlled study.** *The Lancet Neurology.* 6:9 (2007) 765-772.
59. WRAITH, James E.; VECCHIO, Darleen; JACKLIN, Elizabeth; ABEL, Larry; CHADHABOREHAM, Harbajan; LUZY, Cécile; GIORGINO, Ruben; PATTERSON, Marc C. - **Miglustat in adult and juvenile patients with Niemann-Pick disease type C: Long-term data from a clinical trial.** *Molecular Genetics and Metabolism.* 99:4 (2010) 351–357.
60. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA) - Resumo das Características do Medicamento (RCM) - Zavesca. [Acedido a 19 de janeiro de 2019] Disponível na Internet: https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/zavesca-epar-product-information_pt.pdf
61. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA) - **Zavesca** [Acedido a 19 de janeiro de 2019] Disponível na Internet: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/zavesca>
62. OLIVEIRA, Rita ; SANTOS, Delfim ; COELHO, Pedro - **Ciclodextrinas: formação de complexos e sua aplicação farmacêutica.** *Revista da Faculdade de Ciências da Saúde.* Porto : Edições Universidade Fernando Pessoa. ISSN 1646-0480. 6 (2009) 70-83
63. DAVIDSON, Cristin D.; ALI, Nafeeza F.; MICSENYI, Matthew C.; STEPHNEY, Gloria; RENAULT, Sophie; DOBRENIS, Kostantin; ORY, Daniel S.; VANIER, Marie T.; WALKLEY, Steven U. - **Chronic cyclodextrin treatment of murine Niemann-Pick C disease ameliorates neuronal cholesterol and glycosphingolipid storage and disease progression.** *PLoS ONE.* 4:9 (2009).
64. LIU, Benny; LI, Hao; REPA, Joyce J.; TURLEY, Stephen D.; DIETSCHY, John M. - **Genetic variations and treatments that affect the lifespan of the NPC1 mouse.** *Journal of Lipid Research.* 49:3 (2008) 663–669.
65. HELQUIST, Paul; MAXFIELD, Frederick R.; WIECH, Norbert L.; WIEST, Olaf - **Treatment of Niemann-Pick Type C Disease by Histone Deacetylase Inhibitors.** *Neurotherapeutics.* 10:4 (2013) 688–697.
66. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH - **Experimental treatment for Niemann-Pick disease type C1 appears safe, effective.** (2017) [Acedido a 23 de janeiro de 2019] Disponível na Internet: <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/experimental-treatment-niemann-pick-disease-type-c1-appears-safe-effective>
67. SINGHAL, Ashutosh; SZENTE, Lajos; HILDRETH, James E. K.; SONG, Byeongwoon - **Hydroxypropyl-beta and -gamma cyclodextrins rescue cholesterol accumulation in Niemann-Pick C1 mutant cell via lysosome-associated membrane protein 1.** *Cell Death and Disease.* 9:10 (2018) 1–13.
68. CALIAS, Pericles - **2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrins and the Blood-Brain Barrier: Considerations for Niemann-Pick Disease Type C1.** *Current Pharmaceutical Design.* 23:40 (2018) 6231–6238.
69. ORPHAZYME - **Orphazyme reports encouraging Arimoclomol clinical trial top-line data in Niemann-Pick disease type c (NPC).** [Acedido a 23 de janeiro de

2019] Disponível na Internet: <https://www.orphazyme.com/news-feed/2018/9/28/orphazyme-reports-encouraging-arimoclomol-clinical-trial-top-line-data-in-niemann-pick-disease-type-c-npc>

70. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA) - **EU/3/14/1376** [Acedido a 23 de janeiro de 2019] Disponível na Internet: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/orphan-designations/eu3141376>

71. SUBRAMANIAN, Kanagaraj; RAUNIYAR, Navin; LAVALLEÉ-ADAM, Mathieu; YATES, John R.; BALCH, William E. - **Quantitative Analysis of the Proteome Response to the Histone Deacetylase Inhibitor (HDACi) Vorinostat in Niemann-Pick Type CI disease**. *Molecular & Cellular Proteomics*. 16:11 (2017) 1938–1957.

72. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA) - **EU/3/04/205** [Acedido a 24 de janeiro de 2019] Disponível na Internet: <https://www.ema.europa.eu/medicines/human/orphan-designations/eu304205>

73. PIPALIA, N. H.; COSNER, C. C.; HUANG, A.; CHATTERJEE, A.; BOURBON, P.; FARLEY, N.; HELQUIST, P.; WIEST, O.; MAXFIELD, F. R. - **Histone deacetylase inhibitor treatment dramatically reduces cholesterol accumulation in Niemann-Pick type CI mutant human fibroblasts**. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108:14 (2011) 5620–5625.

7. Anexos

Anexo I – Doentes com DLS em tratamento em Portugal (dados de 2012)²⁸

Patologia	Nº de Doentes	Tipo de Tratamento	Nº de Doentes
DÇ de Gaucher	87	Imiglucerase, Cerezyme®	74
		Miglustat, Zavesca®	6
		Velaglucerase, Vpriv®	2
		Ensaio Clínico: Genz -112638	5
DÇ de Fabry	28	Agalsidase alfa, Replagal®	26
		Agalsidase beta, Fabrazyme®	2
MPS tipo I (DÇ de Hurler/Scheie)	11	Laronidase, Aldurazyme®	11
Mucopolissacaridose tipo II (DÇ de Hunter)	8	Idursulfase, Elapraxe®	8
MPS tipo VI (DÇ de Maroteaux-Lamy)	13	Galsulfase, Naglazyme®	13
DÇ de Niemann-Pick tipo C	4	Miglustat, Zavesca®	4
Glicogenose tipo II (DÇ de Pompe)	28	Alglucosidase-alfa, Myozyme®	28

Anexo II – Estratégias terapêuticas aprovadas para as DLS⁶

Disease	Type of therapy	Drug name	Comments
Gaucher disease	Recombinant enzyme ^a	• Imiglucerase • Velaglucerase alfa • Taliglucerase alfa	ERT is effective only for type I Gaucher disease (the non-neuronopathic phenotype) and is not effective for types II and III (neuronopathic phenotypes)
	Substrate reduction therapy	• Miglustat • Eliglustat	Effective only for non-neuronopathic Gaucher disease
Fabry disease	Recombinant enzyme	• Agalsidase beta • Agalsidase alfa	• Agalsidase alfa and beta have the same amino acid composition but different glycosylation • Agalsidase beta was approved by the US FDA, although both drugs are approved by the EMA
	Chaperone therapy	Migalastat	Active site inhibitor and/or chaperone
Pompe disease	Recombinant enzyme	Alglucosidase alfa	Reverses cardiac but not skeletal muscle abnormalities in Pompe disease and is approved by the EMA
MPS I (Hurler–Scheie and Scheie syndromes)	Recombinant enzyme	Laronidase	Effective for attenuated forms of MPS I (Hurler–Scheie and Scheie syndromes) but is not effective for severe form of MPS I (Hurler syndrome)
MPS II (Hunter syndrome)	Recombinant enzyme	• Idursulfase • Idursulfase beta	• Not effective for CNS or skeletal disease • Idursulfase beta approval by Korean Ministry of Food and Drug Safety
MPS VI (Maroteaux–Lamy syndrome)	Recombinant enzyme	Galsulfase	Efficacy variable and depends on the severity of the disease and the age at which ERT was started
MPS IV (Morquio syndrome A)	Recombinant enzyme	Elosulfase	Not effective on bone disease, which might need surgical intervention
MPS VII (Sly syndrome)	Recombinant enzyme	Vestronidase alfa	Approved for use in paediatric and adult patients
Lysosomal acid lipase deficiency	Recombinant enzyme	Sebelipase alfa	Multiple disease-related lipid abnormalities reduced
Late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis type 2 (CLN2 disease)	Recombinant enzyme	Cerliponase alfa	First treatment available for any form of Batten disease; requires intracerebroventricular administration
Niemann–Pick disease type C	Substrate reduction therapy	Miglustat	First small-molecule modifier of CNS disease in an LSD

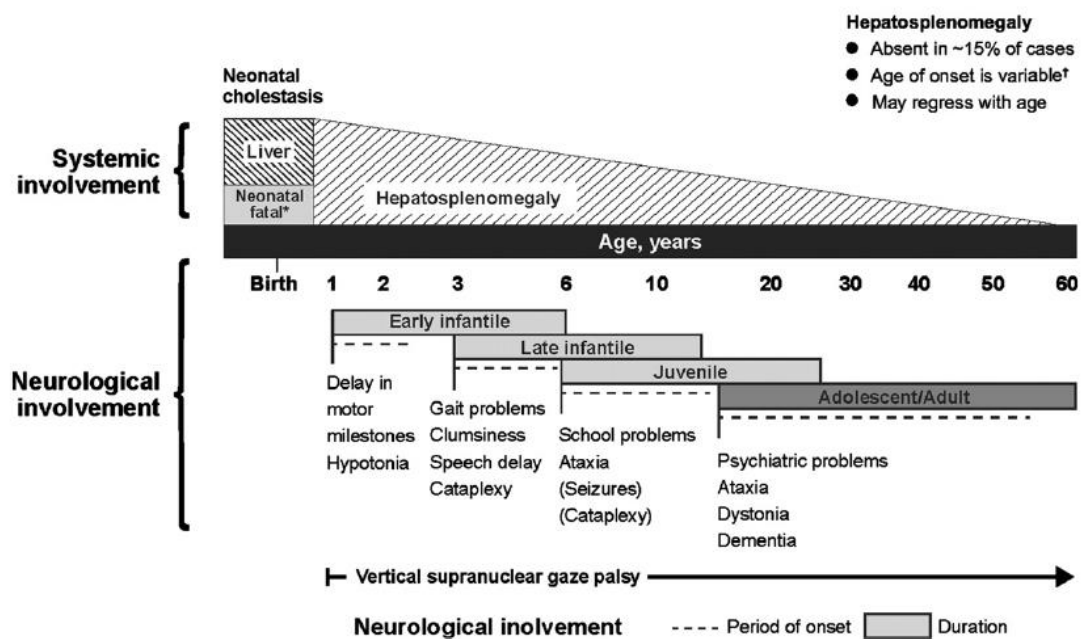
CNS, central nervous system; EMA, European Medicines Agency; ERT, enzyme replacement therapy; LSD, lysosomal storage disease; MPS, mucopolysaccharidosis.
^aThe names of the recombinant enzymes represent the generic name. The use of α and β in the name of the natural enzyme is to distinguish between different preparations of the recombinant enzymes.

Anexo III – Estratégias terapêuticas em ensaios clínicos⁶.

Disease	Type of therapy	Drug name or procedure	Clinical trial number examples
α-Mannosidosis	Recombinant enzyme	rhLAMAN Velmanase alfa	EudraCT Number: 2016-001988-36
Niemann–Pick disease type B	Recombinant enzyme	rhASM Olipudase alfa	NCT02004691
Niemann–Pick disease type C	Proteostasis modifier	Arimoclolol	NCT02612129
	Disease-specific	Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (VTS 720)	NCT02534844
Metachromatic leukodystrophy	Recombinant enzyme	rhASA	NCT01887938
	Gene therapy	LV/ARSA-transduced HSC transplantation	NCT01560182
	Gene therapy	LV/ARSA/ABCD1 transduced autologous HSC transplantation	NCT02559830
	Gene therapy	Intracerebral AAVrh.10cuARSA	NCT01801709
MPS I	Gene therapy	Intravenous AAV/ SB-318-IDUA	NCT02702115
	Anti-inflammatory	Adalimumab	NCT03153319
MPS II	Anti-inflammatory	Adalimumab	NCT03153319
	Gene therapy	AAV/SB-913-IDS	NCT03041324
MPS IIIA (Sanfilippo syndrome A)	Recombinant enzyme	rhHNS	NCT01299727
	Gene therapy	Intravenous scAAV9.U1a.hSGSH	NCT02716246
MPS IIIB (Sanfilippo syndrome B)	Recombinant enzyme	BMN250	NCT02754076
	Substrate reduction therapy	Genistein	EudraCT: 2013-001479-18
	Gene therapy	Intracerebral rAAV2/5-hNAGLU	NCT03300453
MPS VI	Gene therapy	Intravenous rAAV9.CMV.hNAGLU	NCT03315182
	Gene therapy	AAV2/8.TBG.hARSB	NCT03173521
Fabry disease	Substrate reduction therapy	Lucerastat	NCT02930655
	Substrate reduction therapy	Ibiclustat	NCT02228460
	Gene therapy	LV galactosidase-α-transduced stem cells	NCT02228460
Gaucher disease	Substrate reduction therapy	Ibiclustat	NCT02843035
	Chaperone therapy	Ambroxol	NCT01463215
Pompe disease	Gene therapy	Intramuscular AAV9-DES-hGAA	NCT02240407
Tay–Sachs and Sandhoff disease	Chaperone therapy	Pyrimethamine	NCT01102686

Trials are listed on publicly available databases and are available at ClinicalTrials.gov. AAV, adeno-associated virus; ARSA, arylsulfatase A; HSC, haematopoietic stem cell; LSD, lysosomal storage disease; LV, lentivirus; MPS, mucopolysaccharidosis.

Anexo IV – Manifestações clínicas da doença de NP-C1⁵⁰.



Parte II

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas

SWOT: pontos fortes, pontos fracos, oportunidades, ameaças (*strengths, weaknesses, opportunities, threats*)

MICF: Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MSRM: Medicamento Sujeito a Receita Médica

MNSRM: Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

PIM: Preparação Individualizada da Medicação

MM: Medicamento Manipulado

SGQ: Sistema de Gestão de Qualidade

I. Introdução

O presente relatório preconiza a realização de uma reflexão crítica, no formato de análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), no que concerne ao Estágio Curricular, inserido no último ano do curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

O curso de MICF é um curso multidisciplinar, abrangente, que nos reporta para diversas áreas de conhecimento e que nos oferece variadas saídas profissionais. Foi por este motivo, e pela paixão pela área das ciências da saúde, que escolhi realizar este percurso há cinco anos atrás.

Findo o percurso teórico do curso chega então a última etapa, o Estágio Curricular. Este reveste-se de enorme importância, pois permite ao estudante aplicar os conhecimentos científicos à realidade prática, adquirir novas aptidões de âmbito técnico relacionadas com as atividades laborais, assim como tornar o estudante apto ao exercício profissional.

O meu Estágio Curricular decorreu de 9 de setembro de 2018 a 14 de janeiro de 2019, num total de 810 horas, na área de Farmácia Comunitária.

É em Farmácia Comunitária que o profissional das Ciências Farmacêuticas tem um papel mais interventivo no que toca à garantia e promoção da saúde pública e educação para o uso racional do medicamento, uma vez que está em contacto direto com a população, sendo assim preponderante para um completo funcionamento dos sistemas de saúde no mundo. Assim, o farmacêutico, legalmente habilitado e em constante formação, assume-se como um profissional ao qual, estando sujeito ao respeito de um código de deontologia e ética profissional, o utente poderá recorrer para obter aconselhamento e monitorização da sua saúde com qualidade e segurança.

O papel do farmacêutico numa farmácia comunitária é bastante amplo, pelo que o estágio neste campo oferece ao estudante grandes oportunidades de aprendizagem de carácter técnico-científico, pelo experienciar dos diversos casos práticos reais no decorrer do atendimento ao público, pelo contacto com o medicamento e produtos de saúde e pelo contacto com a vertente dos medicamentos manipulados (MM) (execução de fórmulas magistrais e preparações officinais). Além disso, o estágio permite também desenvolver atitudes e valores de carácter psicossocial, em que se insere a relação e cooperação em equipa, a interação e estratégias de comunicação com os utentes, assim como oferece formação de carácter organizacional, em que se insere a gestão administrativa (organização de receituário e de documentos de registo de psicotrópicos e estupefacientes) e a gestão de recursos, de espaço e de tempo.

Escolhi então a Farmácia Luciano & Matos para completar a minha formação académica, por ser uma farmácia de renome, localizada na Praça 8 de Maio em Coimbra, constituída por uma equipa afável, coesa e profissional cuja missão é oferecer à comunidade um serviço farmacêutico de qualidade, com vista à prevenção da doença, melhoria da saúde e promoção do bem-estar.

2. A Farmácia Luciano & Matos

Com quase 90 anos de serviço à comunidade, a Farmácia Luciano & Matos localizada na baixa da cidade de Coimbra, na Praça 8 de Maio, prima pela prestação de serviços de excelência com vista a superar as expectativas do utente e assegurar a satisfação das suas necessidades em saúde e bem-estar¹. Em 2009 passou a fazer parte do Grupo *Holon*, uma rede de farmácias independentes que partilham de uma mesma imagem, visão e marca, e que oferecem serviços especializados tendo como prioridade e foco o utente, numa visão holística^{1,2}.

A sua equipa qualificada, experiente, dinâmica e afável cria um ambiente familiar permitindo a fidelização de muitos utentes que a esta farmácia recorrem diariamente, não só para adquirir a sua medicação, aconselhamento e avaliação de parâmetros bioquímicos e fisiológicos, como para confidenciar as suas vivências, venturas e desventuras, vendo em cada elemento da equipa uma amizade.

A equipa encontra-se estruturada de acordo com as responsabilidades e autoridades de cada um, contando com a Gerência do Sr. Engenheiro José Amado, a Direção Técnica da Dr.^a Maria Helena Amado, os farmacêuticos Dr.^a Andreia Rocha, Dr.^a Rosa Cunha, Dr.^a Mélanie Duarte, Dr.^a Carmen Monteiro, Dr. Gonçalo Lourenço e Dr.^a Mónica Casanova, os Técnicos Auxiliares de Farmácia Sr. Manuel Rodrigues e Susana Ribeiro, a auxiliar de limpeza D. Rosa Cortesão e o apoio de armazém de Filipe André.

A Farmácia Luciano & Matos, de forma a assegurar ao utente que os serviços prestados são realizados em conformidade com as normas vigentes, além de seguir os pressupostos das Boas Práticas de Farmácia, encontra-se certificada segundo a Norma NP EN ISO 9001:2015, funcionando numa abordagem por processos e com um pensamento baseado no risco¹. Em 2015 passou a integrar um projeto da Associação Nacional das Farmácias, o Sistema *Kaizen*, que preconiza a melhoria contínua dos processos³.

3. Análise SWOT

Com este relatório pretendo realizar uma análise retrospectiva do Estágio Curricular efetuado na Farmácia Luciano & Matos, no qual identifiquei: as forças (*Strengths*), relativas ao meu desempenho e aos fatores que me ajudaram a melhorá-lo; as fraquezas (*Weaknesses*), referentes a lacunas e dificuldades que identifiquei na minha prestação, durante o estágio; as oportunidades (*Opportunities*), referentes às experiências que o estágio me proporcionou; e as ameaças (*Threats*), relativas a situações que dificultaram o meu desempenho.

Concentre-se nos pontos fortes, reconheça as fraquezas, agarre as oportunidades e proteja-se das ameaças.
Sun Tzu

3.1. Pontos Fortes (*Strengths*)

3.1.1 Integração na equipa técnica

No primeiro dia de estágio, foram apresentados os elementos da equipa e as instalações da farmácia.

A equipa da Farmácia Luciano & Matos demonstrou-se disponível, proativa, e bastante aberta a desafios, tendo permitido desde logo a integração dos estagiários como se da equipa fizessem parte há muito tempo. As palavras de incentivo e de valorização, assim como as correções e as sugestões de melhoria, foram preponderantes no decorrer do meu estágio. A equipa ajudou-me a desenvolver confiança, espírito crítico, rigor e firmeza nas tarefas que realizei, além de terem enriquecido o meu percurso com os seus conselhos e conhecimentos advindos da grande experiência que apresentam na área.

Além do mais, na Farmácia Luciano & Matos criaram-se laços de amizade e realizaram-se momentos de lazer em grupo, o que facilitou ainda mais esta integração. Sem dúvida que estes momentos foram uma fonte de inspiração e de motivação no decorrer do meu estágio.

(...) Cumplicidade significa trabalhar num ambiente em que todos se ajudam mutuamente. A cumplicidade é um dos fatores primordiais que contribui para o crescimento e desenvolvimento de laços entre as equipas e aumenta o nível de inteligência emocional das mesmas no seu todo, (...) é o cimento agregador e um fator crítico de sucesso de uma organização (...).

Dr.^a Helena Amado, Diretora Técnica da Farmácia Luciano & Matos

3.1.2. Planificação do estágio por etapas

Na Farmácia Luciano & Matos, o estágio é realizado de forma gradual, possibilitando ao aluno a integração de conhecimentos e a minimização do erro. Além disso, antes de cada

etapa é realizada uma contextualização teórica, pelo profissional responsável, de modo a explicar como é efetuada.

O estágio inicia-se na zona de receção e entrada de encomendas, onde são conferidos os prazos de validade, os preços dos medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM), assim como os preços de fatura e de venda ao público dos medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e dos produtos de saúde e bem-estar. Posteriormente, procede-se à marcação dos MNSRM e produtos de saúde com a respetiva etiqueta e à arrumação nos devidos locais. Este passo inicial tornou-se fundamental na medida em que me permitiu familiarizar com os diferentes produtos disponíveis na farmácia para cedência, com os diferentes nomes comerciais de MSRM, com o sistema informático Sifarma 2000[®], com o *Robot* e com os locais de arrumação dos produtos, o que se mostrou fundamental para a etapa do atendimento ao público. Além disso, permitiu-me perceber o circuito do medicamento na farmácia, o qual pode ser arrumado no stock ou reservado para um utente específico.

De seguida, é iniciado o primeiro contacto com o utente no “Gabinete de Utente”, onde é realizada a avaliação de parâmetros fisiológicos e bioquímicos: glicémia, pressão arterial, colesterol total e triglicerídeos/perfil lipídico completo e o teste da bioimpedância. Antes de mais, é fornecido ao aluno o manual “Guia Prático CheckSaúde”, com informação teórica sobre cada parâmetro, procedimentos, intervenções farmacêuticas e *One Point Lessons*, que apresentam a esquematização dos procedimentos normalizados através de fotografias que ilustram cada passo. Considerei bastante útil esta contextualização para relembrar e cimentar conhecimentos e procedimentos que devem ser adotados na avaliação destes parâmetros e sem dúvida que contribuiu para o sucesso desta etapa.

Seguiu-se a conferência de receituário e a faturação, na qual foi contextualizada informação sobre as receitas médicas, tipos e requisitos legais e ainda sobre os subsistemas de saúde e os organismos de participação, tendo sido indispensável para a compreensão do percurso de uma receita médica e das regras a adotar no atendimento ao público.

Foi ainda possível concretizar a verificação e envio da listagem do registo de saídas de psicotrópicos e estupefacientes ao INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P., após prévia fundamentação de como se realiza e após a disponibilização de documentos orientadores para esta etapa.

Antes da fase de atendimento ao público, é realizada uma leitura do manual de atendimento *Holon*, o qual consciencializa para as diversas atitudes e valores que devem ser exaltados para um atendimento de qualidade e com foco voltado para o utente; e do dossier de protocolos de aconselhamento, que dispõe de fluxogramas úteis com o intuito de

uniformizar o mesmo entre os profissionais. Além disso, é realizada uma explicação sobre os passos a realizar, ao nível do sistema informático, desde que começa um atendimento até que este termina. Assim, iniciei então a etapa do atendimento com maior confiança e orientação.

Este percurso terminou com a preparação de um MM sob a orientação do profissional responsável pela tarefa. Foi uma experiência importante, que me permitiu perceber todos os passos inerentes, desde a correta interpretação da receita, ao preenchimento da ficha de preparação de MM, cálculo de preço e realização do rótulo, conforme exigido pela legislação em vigor.

3.1.3 Aplicação/aquisição de conhecimentos em contexto prático e Autonomia

O Estágio Curricular inserido no curso de MICF é uma mais-valia por permitir aplicar os conhecimentos aprendidos em contexto teórico ao contexto prático, principalmente ao nível do atendimento ao público, contribuindo assim para uma formação completa do aluno e preparação para o mercado de trabalho. Além disso, foi possível colmatar algumas lacunas de conhecimento tanto com os profissionais da farmácia, como através do Sifarma 2000®, relativamente a produtos de saúde e dispositivos médicos que não conhecia e a posologias de determinados MNSRM.

Outra força que considerei importante para o meu estágio foi a confiança depositada e a autonomia proporcionada, pela equipa, na realização do atendimento ao público, dos serviços relacionados ao “Gabinete de Utente” e das responsabilidades de *backoffice*, após a confirmação de que eu as realizava com correção. Assim, permitiu-me não só ganhar sentido de responsabilidade, mas também desenvolver estratégias de resolução de problemas com base nos conhecimentos previamente transmitidos.

3.1.4 Abordagem do utente através de uma visão holística

O grande foco de uma farmácia comunitária é o utente e a satisfação das suas necessidades. O farmacêutico deve prestar o melhor serviço ao utente, prezando por um atendimento personalizado que vá de encontro à resolução ou melhoria dos seus problemas em saúde ou necessidades de bem-estar. Além disso, o utente deve ser abordado com uma visão holística, na qual não se tem em conta apenas o problema de saúde físico ou uma necessidade de bem-estar específica, mas também se tem em conta a vertente emocional. Assim, o farmacêutico deve ouvir o utente, ser empático e demonstrar disponibilidade para o ajudar a alcançar melhor qualidade de vida. Esta foi a abordagem que implementei sempre nos

atendimentos durante o meu estágio, o que me permitiu obter a confiança dos utentes e até a sua amizade.

No final de cada dia, senti que tinha prestado a minha contribuição para o bem-estar do utente, tendo sido bastante gratificante perceber que o meu atendimento acrescentou valor ao seu dia a dia.

3.1.5 Desenvolvimento de técnicas de comunicação e *Merchandising*

A farmácia, além de um espaço dedicado à saúde, apresenta uma vertente comercial intrínseca, de forma a que apresente meios de sustentabilidade financeira. Esta vertente visa, não à venda indiscriminada de produtos, mas sim à obtenção de um equilíbrio racional entre a satisfação completa do utente e a rentabilidade da venda. A premissa de obter lucro não deve ser conotada como algo negativo na área da farmácia comunitária, mas como algo que permite valorizar o serviço prestado, no qual a farmácia investiu a pensar no utente. Este estágio permitiu-me adquirir esta concepção de rentabilidade, tão importante para a sobrevivência das farmácias no nosso país.

Com isto, tentei ao longo do estágio desenvolver técnicas de *Merchandising*, no que diz respeito principalmente à realização de vendas cruzadas, de modo a aumentar a rotação de determinados produtos. Para tal, a observação de atendimentos realizados pelos colaboradores da farmácia foi fundamental. Durante o estágio aprendi, então que a comunicação, através de transmissão de conhecimento e de confiança é crucial para que o utente confie no aconselhamento prestado. Assim, sempre de acordo com as necessidades do utente, tentei incluir nas vendas produtos em campanha *Holon* e de maior lucro para a farmácia, além de promover o cartão das Farmácias Portuguesas e as suas vantagens para o utente.

3.2. Pontos Fracos (*Weaknesses*)

3.2.1 Dificuldade inicial em aconselhar medicamentos não sujeitos a receita médica

Quando iniciei o atendimento ao público demonstrei alguma insegurança na informação transmitida e apercebi-me de alguma falta de objetividade e de assertividade na comunicação com o utente.

Para ultrapassar este ponto fraco, ao longo do tempo fui-me apercebendo das minhas potencialidades e aprofundando o conhecimento sobre os MNSRM que não conhecia tão bem, tendo conseguido gradualmente demonstrar segurança e objetividade na escolha do MNSRM

mais indicado a determinada situação que me era apresentada. Além disso, adquiri assertividade na comunicação, isto é, melhorei a capacidade de me exprimir de forma clara e transparente evitando mal-entendidos com os utentes.

3.2.2 Dificuldade em reconhecer substâncias ativas pelas marcas comerciais

A dificuldade de associar uma marca comercial à respetiva substância ativa foi um ponto fraco do meu desempenho, principalmente nos primeiros tempos de estágio. Quando um utente me abordava para esclarecer uma dúvida sobre determinado medicamento e se referia a este através do nome comercial, levava a que eu demonstrasse insegurança. No entanto, no decorrer do estágio, fui adquirindo estratégias para ultrapassar este ponto fraco, como aceder à ficha do produto no *software* Sifarma 2000[®], e questionar à equipa da farmácia. Também o tempo dedicado à entrada de encomendas foi fulcral para a familiarização com as marcas comerciais.

Apesar de considerar este um ponto fraco, não considero uma lacuna do curso de MICF, pois neste curso somos preparados para a componente mais importante que é a associação do mecanismo de ação e do grupo farmacoterapêutico à substância ativa. Além disso, verifiquei que, no estágio, ao longo do tempo ia acabando por assimilar os nomes de marca que mais frequentemente surgiam. Assim, para desenvolver o conhecimento das marcas comerciais, o estágio é um bom ponto de partida.

3.2.3 Dificuldade em aconselhar produtos de dermofarmácia e cosmética, dispositivos médicos e produtos veterinários

A dificuldade em aconselhar produtos de dermofarmácia e cosmética foi outro dos obstáculos com que me deparei. Relativamente a produtos de dermofarmácia, com alguma revisão de conceitos adquiridos durante a formação académica consegui rapidamente ultrapassar as dificuldades no aconselhamento.

Durante o curso de MICF aprendi bastante sobre as funções na pele e na formulação de vários componentes de produtos cosméticos e de higiene corporal. Contudo, a meu ver, no curso é mais enfatizada a componente tecnológica inerente ao desenvolvimento de uma formulação do que a componente da sua utilização pelo utente. Neste sentido, senti algumas dificuldades em indicar um determinado produto para uma situação concreta. Para ultrapassar esta lacuna, destaco a importância da equipa da Farmácia Luciano & Matos que se disponibilizou a explicar algumas questões básicas mais voltadas para o aconselhamento inerentes à

cosmética, como por exemplo, o produto cosmético indicado para cada tipo de pele. Deste modo, sinto que terminei o estágio com relativa “à vontade” no aconselhamento destes produtos.

Quanto aos dispositivos médicos, durante o curso não há uma base preparatória neste sentido, pelo que foi outro ponto fraco no meu desempenho. Entre os dispositivos médicos que me trouxeram mais dificuldades, destaco as meias de compressão e o aconselhamento do melhor tipo de penso com ação terapêutica para cada situação. No entanto, este aspeto foi ultrapassado com pesquisa bibliográfica e experiência contínua ao longo do estágio.

Relativamente aos produtos veterinários também senti que não me encontrava preparada para o seu aconselhamento, pois não conhecia alguns dos fármacos com esta indicação. Aqui foi também fulcral a ajuda dos colaboradores da Farmácia Luciano & Matos e da experiência que fui adquirindo com as situações com as quais me deparava.

3.3. Oportunidades (*Opportunities*)

3.3.1 Integração numa farmácia *Holon*

O facto de ser uma farmácia *Holon*, permite à Farmácia Luciano & Matos ter uma visão centralizada no utente, apostando num atendimento personalizado e disponibilizando determinados serviços especializados que acrescentam valor à farmácia e ao utente. Os serviços prestados pela Farmácia Luciano & Matos vão de encontro às necessidades do utente e conferem à farmácia uma vantagem competitiva. Estes serviços são: administração de vacinas, preparação individualizada da medicação (PIM) e consulta da cessação tabágica (realizados pelos farmacêuticos colaboradores da farmácia); consultas de dermofarmácia, pé diabético, podologia, nutrição (que são realizados por prestadores externos).

Além disso, uma Farmácia *Holon* dispõe de MNSRM, suplementos alimentares, produtos de dermofarmácia e dispositivos médicos, pertencentes à marca *Holon*, dotados de qualidade, segurança e eficácia⁴ e com preços atrativos, oferecendo ao utente diversas opções com vista à melhoria da sua qualidade de vida e acessibilidade às mesmas. Para a farmácia, os produtos *Holon* são um fator diferenciador, para além de permitirem a obtenção de maior rentabilidade.

Neste sentido, considero que foi uma oportunidade ter realizado o meu estágio numa farmácia *Holon*. Desta forma, tive a possibilidade de conhecer a sua visão e a forma como se organiza para dispôr destes cuidados complementares ao utente. Assim, tive a oportunidade de realizar marcações de consultas, esclarecendo os utentes sobre as mesmas, de estar em

contacto com os prestadores externos, de presenciar o seguimento do estado de saúde de doentes crónicos e ainda de realizar a PIM.

A PIM é um serviço no qual é preparada semanalmente uma embalagem descartável e totalmente selada com a medicação do doente dividida de acordo com a posologia implementada pelo médico. Este serviço é bastante útil em doentes polimedicados, permitindo que os mesmos tomem a medicação certa, na dose certa, no dia certo e à hora certa, potenciando a adesão à terapêutica e ganhos em saúde nestes doentes. Assim, e com a ajuda da equipa da farmácia, pode ter um papel ativo na intervenção farmacêutica.

3.3.2 Heterogeneidade de utentes

Devido à sua localização central e turística na cidade de Coimbra, a Farmácia Luciano & Matos apresenta utentes muito heterogéneos, isto é, utentes de diversas faixas etárias e origens. Reconheço este fator como uma oportunidade, na medida em que me permitiu uma aprendizagem mais abrangente, dada a ampla diversidade de casos práticos, nos quais pude aplicar conhecimentos e adquirir experiência, desde as situações mais simples às mais complexas. No ponto 4 deste relatório apresento dois casos práticos que experienciei durante o estágio.

A elevada frequência de turistas na farmácia foi também uma grande oportunidade, uma vez que me permitiu pôr em prática conhecimentos de língua inglesa. Além disso, o atendimento de turistas revela-se sempre desafiante, uma vez que, habitualmente, os turistas procuram produtos específicos, não comercializados em Portugal, obrigando à procura de alternativas.

3.3.3 Realização de um medicamento manipulado

A Farmácia Luciano & Matos realiza uma quantidade considerável de MM, dispondo de um farmacêutico praticamente a tempo inteiro dedicado à preparação dos mesmos. Hoje em dia, este serviço na farmácia comunitária tem vindo a decrescer devido ao aparecimento de indústrias especializadas neste âmbito, que dispõem de uma produção automatizada e de custos mais praticáveis. Assim, o facto de a Farmácia Luciano & Matos ser das poucas farmácias comunitárias que dispõem deste serviço de uma forma tão dedicada e com tamanha variedade de MM e de formas farmacêuticas passíveis de serem preparadas, permite-lhe apresentar vantagens competitivas no mercado em que se insere. Como tal, considero este tópico uma excelente oportunidade que me foi oferecida na realização deste estágio.

A etapa de preparação de um MM foi realizada nas últimas semanas de estágio, porém ao longo de todo o período, o contacto com a vertente do medicamento manipulado é inevitável, quer através da receção das solicitações por parte de utentes e de outras farmácias, quer através da cedência do MM, a qual se reveste de grande importância. A cedência do MM pressupõe que sejam dadas indicações ao doente de como proceder à sua utilização, as precauções a tomar, como conservar e alertar para o prazo de utilização.

Chegada a fase de preparar o MM, o profissional responsável fornece previamente, ao aluno, documentação sobre a substância ativa, a ficha de preparação com o procedimento a seguir e os cálculos a efetuar, assim como a documentação com as normas vigentes relativas à estabilidade do MM. Esta primeira abordagem foi uma mais valia para que pudesse recordar os conhecimentos adquiridos nas unidades curriculares de Farmácia Galénica e Tecnologia Farmacêutica e preparar-me para realizar esta tarefa com o máximo de rigor possível.

O MM que preparei foi a solução oral de propranolol a 5 mg/mL, destinada a uma criança, para a indicação terapêutica de hemangioma infantil.

A preparação laboratorial do MM é acompanhada do simultâneo preenchimento e rubrica da ficha de preparação, onde constam, no geral, informações relevantes sobre as matérias-primas e respetivos cálculos de pesagem, o método de preparação, tipo de embalagem, o modelo de rotulagem, resultados do controlo de qualidade que atestam a conformidade do medicamento preparado, nome do doente e do prescriptor e o cálculo do preço de venda de acordo com a legislação em vigor. No anexo I, II e III apresento a receita médica, a ficha de preparação e o rótulo do MM que tive oportunidade de realizar, respetivamente.

3.3.4 Participação em formações complementares

Paralelamente à realização do estágio foram surgindo oportunidades para assistir a formações complementares. Uma das quais subordinada ao tema “Envelhecimento Saudável” realizada pela Pharma Nord, na qual foram enfatizados os papéis da coenzima Q10 e do selénio como antioxidantes. Os benefícios da coenzima Q10 foram realçados em problemáticas de saúde como a hipercolesterolemia, a rabdomiólise causada por estatinas e a insuficiência cardíaca crónica, tendo sido apresentado um estudo com resultados positivos da coenzima Q10 a nível cardiovascular (Anexo IV). Quanto ao selénio, foram realçados os impactos no reforço do sistema imunitário, os impactos ao nível da tiróide e da fertilidade, os benefícios na doença celíaca e na prevenção do cancro. Esta formação revestiu-se de extrema

importância pois permitiu-me atualizar os meus conhecimentos e aplicá-los no aconselhamento ao nível do atendimento ao público na farmácia.

Particpei ainda numa formação de sensibilização para a rigidez arterial, um parâmetro que, assim como a tensão arterial, tem bastante relevância pois permite avaliar a elasticidade das artérias atribuindo-lhes uma “idade” e assim ajudar a implementar medidas preventivas antes das primeiras complicações relacionadas à rigidez da parede das artérias (Anexo V). Não tive oportunidade de realizar avaliações da rigidez arterial, mas a formação foi uma mais-valia para perceber a importância deste parâmetro fisiológico.

Além disso, participei em formações realizadas por delegados de informação médica sobre suplementos alimentares, nos quais foram prestados esclarecimentos sobre as indicações, as vantagens de cada constituinte na composição dos suplementos, assim como as vantagens relativamente a outros produtos concorrentes. E ainda uma formação sobre o Ben-U-ron Direct[®], uma nova forma farmacêutica do Ben-U-Ron[®], e as suas vantagens.

Por fim, tive a oportunidade de participar numa formação sobre “ajudas técnicas”, que me permitiu familiarizar com os diferentes instrumentos de apoio existentes para pessoas com limitações de movimento.

Em suma, considero que foram formações enriquecedoras e que me permitiram integrar na temática dos produtos de venda livre, em âmbito de farmácia comunitária.

3.3.5 Contacto com o Sifarma 2000[®] e com o Robot

A Farmácia Luciano & Matos utiliza o *software* Sifarma 2000[®] como sistema informático. Este *software* é uma ferramenta indispensável para facilitar a gestão integrada de todos os processos realizados na farmácia, como a gestão de encomendas, a gestão de vendas, a gestão de listagens de psicotrópicos e a gestão de stock. Além disso, é uma ajuda imprescindível na altura do atendimento uma vez que permite à farmácia guardar uma ficha de cada utente e aceder ao seu histórico de medicação. A meu ver foi uma oportunidade poder trabalhar com esta ferramenta, uma vez que, ao lidar diariamente com esta, percebi o seu funcionamento e, sendo o sistema informático utilizado pela maioria das farmácias em Portugal, ofereceu-me assim uma bagagem para o meu futuro de trabalho.

O contacto com o *Robot* foi também uma mais-valia. O *Robot* veio proporcionar à farmácia uma melhor gestão de tempo e de organização do stock de medicamentos. Aprender as funcionalidades do *Robot* permitiu-me perceber a sua interligação com o sistema informático Sifarma 2000[®], encontrando-me preparada caso no futuro necessite de trabalhar com esta funcionalidade.

3.3.6 Contacto com o Sistema de Gestão de Qualidade e filosofia *Kaizen*

O Sistema de Gestão de Qualidade (SGQ) da Farmácia Luciano & Matos baseia-se nas Boas Práticas de Farmácia e na Norma NP EN ISO 9001:2015¹. A gestão da qualidade é assim realizada através de uma abordagem por processos, nos quais são respeitados os requisitos legais e normativos, com vista a alcançar a satisfação do utente e a melhoria contínua¹. Os processos referem-se a todas as áreas que fazem parte do funcionamento da farmácia, sendo estas: a gestão do próprio SGQ, o atendimento, a prestação de serviços, os projetos, o aprovisionamento e os recursos. Para cada processo existe uma estrutura documental hierarquizada, para servir de orientação à aplicação do SGQ e assim evitar o risco e as não conformidades¹.

O meu contacto com o SGQ iniciou-se no primeiro dia com a leitura do manual de qualidade que a farmácia me disponibilizou. Com isto, pude desde logo tornar-me parte integrante da aplicação do SGQ. Esta foi uma grande oportunidade pois nunca tinha experienciado trabalhar com base nestas linhas orientadoras com vista à qualidade dos serviços realizados. Desta forma, pude perceber como o SGQ é aplicado na prática e perceber os resultados que origina.

Em interligação ao SGQ, a Farmácia Luciano & Matos realiza toda a sua atividade com base numa filosofia, a filosofia do Sistema *Kaizen*. O *Kaizen* foi fundado por Masaaki Imai em 1985 como um sistema com visão própria, que permite às empresas obter vantagens competitivas³.

A palavra *Kaizen* provém da junção das palavras *Kai* (mudar) e *Zen* (melhor) sendo então, um sistema que visa a melhoria contínua dos processos³. Segundo o *Kaizen Institute*^{3,5}, a aplicação do *Kaizen* visa o “aumento da produtividade, rentabilização e motivação de recursos, eliminação de desperdícios, redução de tempos de produção ou otimização de equipamentos”⁵. Para tal, o *Kaizen* preconiza que as empresas sejam geridas com base no “ver para compreender”, trabalhar com dados concretos e factos, tomar medidas para eliminar causas de erro e trabalhar em equipa³.

Na Farmácia Luciano & Matos o *Kaizen* é aplicado no dia a dia através de: uma excelente estratégia de organização no espaço da farmácia, sempre baseada no lema “um local para cada coisa, cada coisa no seu local”; divisão das responsabilidades de cada um; cooperação em equipa; motivação para fazer melhor; e uma constante comunicação entre os elementos através de reuniões periódicas. Nestas reuniões, designadas de reuniões *Kaizen*, a equipa discute os objetivos que pretende alcançar, os resultados que já alcançou e sugestões de melhoria. Para mim, enquanto estagiária foi uma grande oportunidade vivenciar a filosofia

Kaizen e aprender a implementá-la no meu dia a dia, tendo verificado que efetivamente existe uma maior otimização do trabalho realizado e um maior atingimento de objetivos. No futuro, este vai ser certamente um fator que me diferenciará no mercado competitivo que existe hoje em dia.

3.4. Ameaças (Threats)

3.4.1 Sistema informático e gestão administrativa ao balcão

O sistema informático é com certeza uma ferramenta muito útil no dia a dia da farmácia, contudo, o facto de exigir a realização de diversos passos no decorrer do atendimento, impede que a atenção seja centrada no utente. Este aspeto é principalmente uma ameaça para quem ainda apresenta alguma inexperiência, uma vez que há certos passos no *software* que não é possível de reverter. No meu caso, para não errar nenhum dos passos, a minha atenção era um pouco “desviada” da atenção no doente, prejudicando a realização de um aconselhamento racional e baseado num todo. Também a gestão administrativa ao balcão, como é exemplo o processamento de uma receita manual, impede muitas vezes o foco no utente. Além disso, quando os processos ao computador eram mais demorados ou quando ocorriam erros no sistema, havia uma transmissão de desconforto por parte do utente. Por este motivo, considero que esta foi uma ameaça inicial.

No entanto, com o avançar do tempo e com a aquisição de experiência no atendimento comecei a adotar estratégias que me permitiram equilibrar a atenção aos procedimentos inerentes à venda e ao *software* e a atenção e escuta ativa do utente, assim como a realização de cada parte no seu tempo, sem tentar apressar o processo. Desta forma consegui proteger-me desta ameaça.

3.4.2 Escassez de tempo para o utente e para integração de conhecimento

A grande afluência de utentes é sem dúvida um fator muito positivo para a farmácia e uma grande oportunidade para esta se fazer valer. Contudo para mim, enquanto estagiária, estes momentos tornavam-se bastante tensos, uma vez que sentia a responsabilidade de agilizar cada atendimento no menor tempo possível para evitar o transtorno dos utentes. Desta forma, era perdido algum do tempo que poderia ter sido bastante útil para conhecer o utente, avaliar as suas reais necessidades e prestar o melhor aconselhamento possível. Esta foi também uma ameaça ao meu desempenho, assim como a escassez de tempo para refletir

sobre determinado momento de aprendizagem de forma a integrá-lo, a cimentá-lo e a avaliá-lo criticamente, e de modo a compreender os pontos a melhorar.

No entanto, com o decorrer do estágio e com a rápida familiarização dos procedimentos inerentes ao atendimento, consegui mais uma vez ultrapassar este obstáculo e gerir a pressão que sentia.

3.4.3 Produtos esgotados

Durante o estágio foram recorrentes as roturas de stock por parte dos laboratórios. Neste sentido, tornava-se impossível satisfazer necessidades específicas do utente, quando este não pretendia alternativas. Este facto, potenciava a visão redutora do utente para com a farmácia e para ultrapassar este aspeto, tentei sempre, através dos recursos de que dispunha (telefonando para os laboratórios, de modo a perceber as razões da falta; telefonando para outras farmácias; telefonando para o médico para arranjar alternativas) ajudar o utente a conseguir o medicamento pretendido ou o produto de saúde e bem-estar.

3.4.4 Descredibilização do estagiário pelo utente

A descredibilização do estagiário pelo utente, apesar de não ter sido frequente na Farmácia Luciano & Matos, é ainda um ponto negativo durante os estágios na aprendizagem do aluno. O facto de alguns utentes preferirem ser atendidos por um colaborador mais experiente leva a que seja impossibilitado ao aluno de mostrar o que vale e contribuir para o desenvolvimento das suas qualidades na intervenção farmacêutica perante um atendimento. Nestas situações, a minha atuação primou pelo respeito pela opinião do utente e pelas suas preferências, pelo que reagi sempre com naturalidade e compreensão.

Por outro lado, em alguns momentos em que o utente se apresentava mais apreensivo ao ser atendido por um estagiário, fui capaz de fazer com que o mesmo sentisse confiança nos meus conselhos e assim contribuir para uma visão mais positiva do mesmo.

4. Casos práticos

Neste ponto do relatório de estágio, apresento alguns casos práticos que surgiram durante o atendimento ao público, na Farmácia Luciano & Matos, e que me permitiram aplicar conhecimentos teóricos em contexto prático.

4.1 Caso prático n.º I

Uma utente do sexo feminino, de 60 anos dirige-se à farmácia e refere apresentar dor por baixo da mama esquerda. De forma a que pudesse identificar melhor a situação questionei se poderia observar a região da pele onde apresentava dor, tendo-se demonstrado colaborativa. Assim, para garantir a privacidade da utente, solicitei que me acompanhasse até ao “Gabinete de Utente”. Após a observação da região afetada, verifiquei que a utente apresentava sinais de inflamação na pele devido a infeção fúngica, uma vez que a pele se encontrava ruborizada, ligeiramente macerada, com exsudação e cheiro fétido.

A região da pele por baixo da mama, é uma zona propícia à infeção fúngica, uma vez que essa zona apresenta maior humidade, devido à sudorese, e devido ao facto de não ocorrer a correta secagem da pele após o banho. Assim, sugeri à utente que realizasse a lavagem da região da pele, para remoção do exsudato, com Ducray Diaseptyl Spray[®], secando a pele com a ajuda de uma compressa esterilizada através da aplicação de ligeiros toques. O Ducray Diaseptyl Spray[®] apresenta na sua constituição clorohexidina, uma substância com propriedades antissépticas que ajuda a evitar a infeção bacteriana na região macerada.

De seguida aconselhei a aplicação de um creme com propriedades cicatrizantes, nomeadamente o creme La Roche Posay Cicaplast[®], duas vezes por dia, na pele limpa e seca. O creme La Roche Posay Cicaplast[®] apresenta na sua constituição componentes que vão favorecer a reparação da barreira cutânea e que vão proporcionar um cuidado hidratante e calmante da pele⁶.

Posteriormente, aconselhei a que, após a completa cicatrização da pele, aplicasse Canesten[®] creme duas vezes por dia, na pele limpa e seca. O Canesten[®] creme apresenta cetoconazol como substância ativa, que é um antifúngico de largo espectro⁷.

Para finalizar, a fim de prevenir o aparecimento de recidivas, sugeri à utente que, após o tratamento, tivesse o cuidado de limpar e secar muito bem a região da pele em causa e que fosse vigiando possíveis sinais de inflamação.

4.2 Caso prático n.º 2

Uma utente do sexo feminino, de 40 anos dirige-se à farmácia e refere que apresenta descamação intensa, em placas, no couro cabeludo e prurido. A utente diz já ter realizado tratamento com champôs antifúngicos, não tendo resolvido o problema, e que a situação lhe tem causado bastante desconforto. A utente refere ainda que tem reparado numa queda de cabelo acentuada.

Ao perceber que poderia ser um problema de psoríase ao nível do couro cabeludo, e uma vez que naquela semana se iria realizar um serviço *Holon* de dermofarmácia especialmente dedicado aos cuidados capilares, aconselhei que realizasse a marcação. Contudo, a utente não tinha disponibilidade para estar presente, pelo que decidi aconselhar um champô queratoreductor, como o Ducray Kertyol P.S.O.[®] e expliquei que o deveria aplicar no cabelo húmido, enxaguar de seguida e repetir a aplicação, desta vez deixando atuar durante três minutos, voltando a enxaguar com água abundante⁸. O tratamento deve ser realizado duas a três vezes por semana, durante seis semanas⁸. O champô Ducray Kertyol P.S.O.[®] apresenta na sua constituição enxofre e ácido salicílico, que têm ação queratolítica permitindo eliminar as placas descamativas⁸. Este champô apresenta também ictiol e glicerol, componentes que têm ação calmante, antipruriginosa e hidratante⁸. Uma vez que a utente apresentava cabelo seco, com tendência para embaraçar facilmente, aconselhei também a aplicação de Ducray Kertyol P.S.O.[®] condicionador.

De forma a maximizar o tratamento, e de evitar o aparecimento de recidiva, sugeri o champô de utilização diária Elution Ducray[®] reequilibrante, indicado para o cabelo fragilizado⁹. Elution Ducray[®] apresenta gluconato de zinco, glicocola e vitamina B5 que conferem ação calmante e limpam o couro cabeludo com suavidade, evitando a recidiva da descamação⁹.

5. Conclusão

O Estágio Curricular em Farmácia Comunitária é uma excelente preparação do aluno de MICF para o mercado de trabalho e o primeiro passo para a integração numa classe tão preponderante para a sociedade, que é a classe farmacêutica.

Ser farmacêutico é mais do que ser especialista do medicamento, é ser um profissional dedicado ao outro, é ser um bom ouvinte, um bom conselheiro e um bom amigo. O farmacêutico presta um papel de excelência na comunidade, na promoção da saúde e da qualidade de vida, assim como na prevenção da doença. Este profissional de saúde, é muitas vezes o primeiro e o único com o qual o utente contacta para esclarecer as suas dúvidas e para satisfazer necessidades em saúde e bem-estar. Assim, esta profissão reveste-se de extrema responsabilidade e exige qualificação e formação contínua.

Neste Estágio Curricular, não só me foi possibilitada uma aprendizagem de qualidade, como também me foram transmitidos compreensão, apoio e incentivo. Por este motivo, tenho a agradecer à equipa da Farmácia Luciano & Matos. Além disso, tenho também a agradecer aos meus colegas de estágio pela cumplicidade, pela partilha de experiências e pela entreaajuda, fulcrais para o sucesso desta etapa.

A experiência de realizar o Estágio Curricular em Farmácia Comunitária permitiu-me crescer tanto a nível pessoal, no que toca a valores como a responsabilidade, a proatividade, o espírito crítico, a organização, a perseverança e o espírito de equipa, como a nível de conhecimento técnico-científico basilar da profissão farmacêutica.

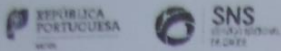

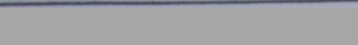






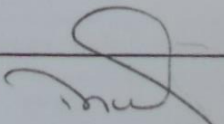
Termino assim o meu estágio com a certeza de que tenho os pilares fundamentais para a construção de um futuro pela saúde, pelo bem-estar, pela classe farmacêutica, pela sociedade.

6. Referências Bibliográficas

1. FARMÁCIA LUCIANO & MATOS - **Manual de Acolhimento**. (2015).
2. FARMÁCIAS *HOLON* – **Serviços Holon** [Em linha] [Acedido a 29 janeiro de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.farmaciasholon.pt/servicos-holon>.
3. KAIZEN INSTITUTE – **O que é Kaizen?** [Em linha] [Acedido a 29 de janeiro de 2019]. Disponível na Internet: <https://pt.kaizen.com/quem-somos/significado-de-kaizen.html>.
4. FARMÁCIAS *HOLON* – **Produtos Holon** [Em linha] [Acedido a 29 janeiro de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.farmaciasholon.pt/produtos-holon>.
5. KAIZEN INSTITUTE – **Kaizen Institute** [Em linha] [Acedido a 29 de janeiro de 2019]. Disponível na Internet: <https://pt.kaizen.com/quem-somos/kaizen-institute.html>.
6. LA ROCHE-POSAY- **Cicaplast**. [Em linha] [Acedido a 1 de fevereiro de 2019] Disponível na Internet: <https://www.laroche-posay.pt/produtos-cuidados/cicaplast/cicaplast-p3339.aspx>.
7. INFARMED – **Resumo das características do medicamento Canesten® 10 mg/g creme**. (2014). [Em linha] [Acedido a 1 de fevereiro de 2019]. Disponível na Internet: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=1410&tipo_doc=rcm
8. DUCRAY - **Kertyol P.S.O.® Champô**. [Em linha] [Acedido a 1 de fevereiro de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.ducray.com/pt-pt/kertyol-pso/kertyol-pso-champo>.
9. DUCRAY – **Elution Champô Reequilibrante**. [Em linha] [Acedido a 1 de fevereiro de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.ducray.com/pt-pt/elution/elution-champo-reequilibrante>.

7. Anexos

Anexo I – Receita médica do medicamento manipulado.

		 * 2 0 1 1 0 0 0 0 4 2 4 0 8 4 3 0 4 0 3 *	
Utente:  Telefone:  R.C.: 		 * 2 6 8 5 9 4 7 4 0 *	
Entidade Responsável: SNS N.º de Beneficiário:		MM	
 * M 5 1 2 4 0 *		Especialidade: MEDICINA GERAL E FAMILIAR Telefone: 	
		ACES BX MONDEGO USF TOPÁZIO  * U 0 6 2 7 9 1 *	
R _x DCI / nome, dosagem, forma farmacêutica, embalagem, posologia		N.º Extensó Identificação Ótica	
1 Propranolol 5 mg/ml solução oral.FSA e mande em frasco Posologia: 0.8 ml 8/8h		1 Uma	
2			
3			
4			
Validade: 30 dias Data : 2019-01-03		 (assinatura do Médico Prescritor)	

Processado por computador - Prescrição Eletrónica Médica, v2.3.0 - SPMS, EPE.

Anexo II – Ficha de preparação do medicamento manipulado

FICHA DE PREPARAÇÃO DE MEDICAMENTOS MANIPULADOS

farmácia Luciano & Matos
FARMÁCIAS 43.011

Medicamento: Solução oral de Propranolol a 5 mg/ml

Teor em substância(s) activa(s); 100g (ml ou unidades) contém 0,5 g (ml) de propranolol.

Forma farmacêutica: solução **Data de preparação:** 04/01/2019

Número de lote: 0419 **Quantidade a preparar:** 40 ml

Matérias-primas	Nº de lote	Origem	Farmacopeia	Quantidade para 100ml	Quantidade calculada	Quantidade pesada	Rubrica do operador	Rubrica do supervisor
Propranolol HCl	180064-F-1	Acofarma	Ph. Eur. 9.2	0,5g	0,2g	0,200g	<i>[Handwritten Signature]</i>	<i>[Handwritten Signature]</i>
Ácido cítrico mono-hidratado	161783-I-1	Acofarma	Ph. Eur. 8.8	q.b.p. pH = 3 - 4	q.b.p. pH = 3 - 4	2,507g (para 10 ml)	<i>[Handwritten Signature]</i>	<i>[Handwritten Signature]</i>
Água purificada	18080032	Alvita	FP	7,5 ml	3 ml	3,044g	<i>[Handwritten Signature]</i>	<i>[Handwritten Signature]</i>
Excip. Acofar Xarope comum	171514-P-1	Acofarma	Acofarma	q.b.p. 100ml	q.b.p. 40ml	46g	<i>[Handwritten Signature]</i>	<i>[Handwritten Signature]</i>

Preparação

1. Verificar o estado de limpeza do material.	<i>[Handwritten Signature]</i>
2. Preparar 10 ml de solução aquosa de ácido cítrico mono-hidratado a 25%.	<i>[Handwritten Signature]</i>
3. Pesar o propranolol, transferir para um copo, adicionar 3 ml de água purificada e misturar.	<i>[Handwritten Signature]</i>
4. Adicionar cerca de 20 ml de xarope comum ao copo e agitar até obtenção de uma solução homogénea.	<i>[Handwritten Signature]</i>
5. Transferir a solução obtida em 4 para uma proveta e adicionar xarope comum até obter um volume aproximado de 35 ml, efetuando lavagens do copo com pequenas quantidades de xarope.	<i>[Handwritten Signature]</i>
6. Ajustar o pH a 3 - 4 com a solução de ácido cítrico e agitar. (2 ml)	<i>[Handwritten Signature]</i>
7. Perfazer o volume final com xarope simples e misturar.	<i>[Handwritten Signature]</i>
8. Transferir para um frasco de vidro âmbar de forma e rotular.	<i>[Handwritten Signature]</i>
9. Lavar e secar o material utilizado.	<i>[Handwritten Signature]</i>

Imp.01B Rev.0 Página 1 de 4

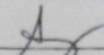
Aparelhagem usada: Balança BL.01

Embalagem

Tipo de embalagem: Frasco de Vidro Âmbar, tipo III (FP VI)


Material de embalagem	Nº de lote	Origem
Frasco vidro âmbar	170336-X-1	Acofarma

Capacidade do recipiente: 60 ml


Operador: 

Prazo de utilização e Condições de conservação

Condições de conservação: Conservar no frigorífico, no recipiente bem fechado.
Proteger da luz directa e da humidade.

Operador: 

Prazo de utilização: 14 dias


Operador: 

Rotulagem






1. Proceder à elaboração do rótulo de acordo com o modelo descrito em seguida.
2. Anexar a esta ficha de preparação uma cópia, rubricada e datada, do rótulo da embalagem dispensada.

Modelo de rótulo

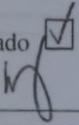
Identificação da Farmácia	Identificação do Médico prescriptor
Identificação do Director Técnico	Identificação do doente
Endereço e telefone da Farmácia	
DENOMINAÇÃO DO MEDICAMENTO	
Teor em substância(s) activa(s)	Data de preparação
Quantidade dispensada	Prazo de utilização
Referência a matérias-primas cujo conhecimento seja eventualmente necessário para a utilização conveniente do medicamento	Condições de conservação
Farmacologia	Nº de lote
Via de administração	Manter fora do alcance das crianças
	Advertências (precauções de manuseamento, etc.)
	Uso externo (caso se aplique) (em fundo vermelho)

Operador: 

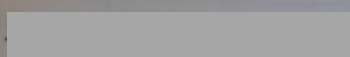

Verificação

ENSAIO	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO	Rubrica do operador
Cor	Incolor	CONFORME	
Odor	Sem alteração	CONFORME	
Aspecto	Homogéneo	CONFORME	
Quantidade	40 ml \pm 5%	CONFORME	
pH	Entre 3 e 4	CONFORME (pH = 4)	

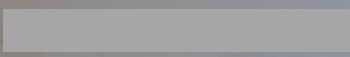
Aprovado Rejeitado

Supervisor:  04/01/2019

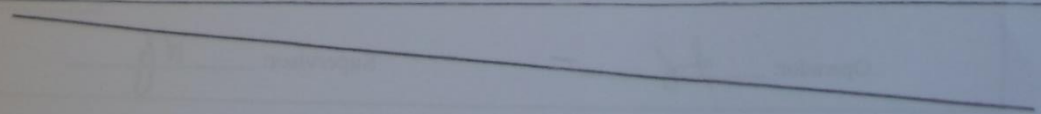
Nome e morada do doente


Tlm mãe: 

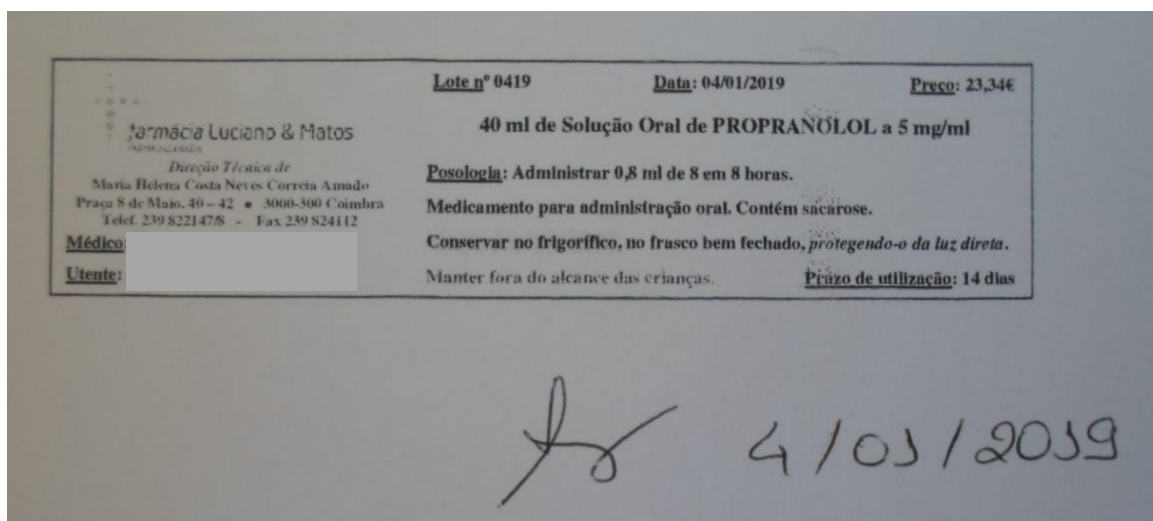
Nome do prescritor



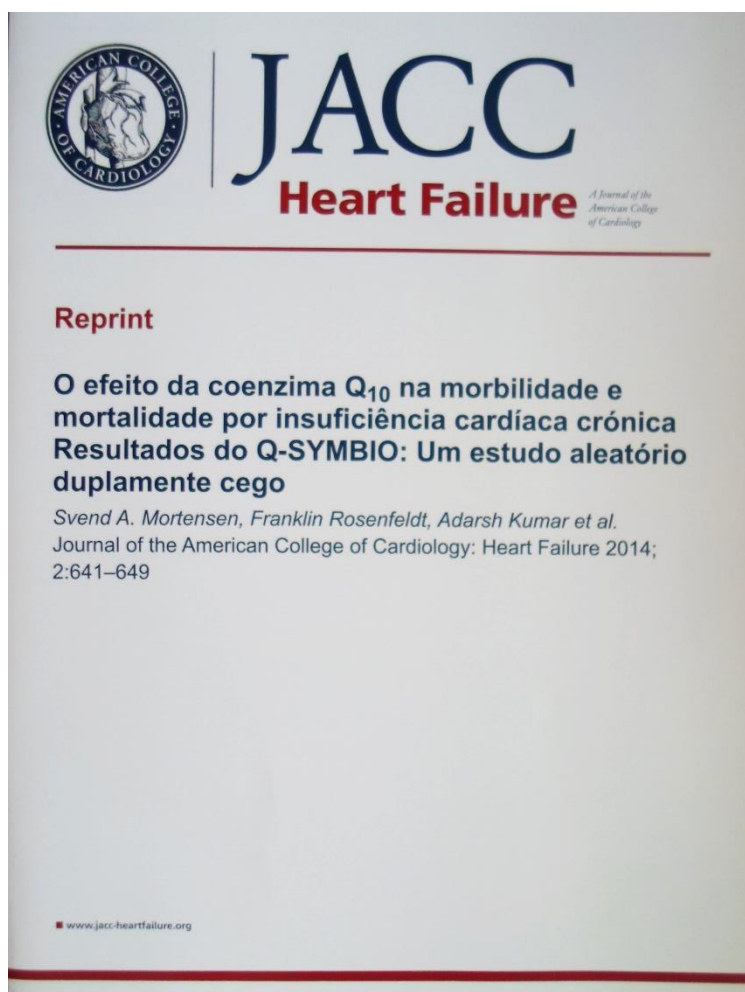
Anotações



Anexo III – Rótulo do medicamento manipulado



Anexo IV – Estudo apresentado na formação “Envelhecimento Saudável” da Pharma Nord.



Anexo V – Folheto sobre a rigidez arterial.

O QUE É A RIGIDEZ ARTERIAL?

As artérias, vasos sanguíneos responsáveis pelo transporte do sangue do coração para todas as partes do corpo, vão perdendo elasticidade ao longo da vida, tornando-se mais rígidas.

A rigidez arterial surge como um processo normal do envelhecimento. Contudo, pode ser acelerada pela presença de fatores genéticos, pelos estilos de vida pouco saudáveis (inatividade física, hábitos tabágicos, alimentação desequilibrada) ou algumas doenças (como, por exemplo, a diabetes ou a hipertensão arterial).



COMO SE AVALIA?



A avaliação da rigidez arterial e da idade das artérias é feita por um método simples e não invasivo, semelhante ao utilizado para avaliar a pressão arterial. Uma braçadeira é colocada no braço e permite obter parâmetros relacionados com a saúde das artérias.

OS RESULTADOS, OBTIDOS NO MOMENTO, SÃO ADAPTADOS ÀS CARACTERÍSTICAS DE CADA PESSOA, TORNANDO ESTA AVALIAÇÃO TOTALMENTE PERSONALIZADA!

QUE RESULTADOS OBTÉM?

PRESSÃO ARTERIAL
Indica a força que o sangue bombeado pelo coração exerce nos vasos sanguíneos.

FREQUÊNCIA CARDÍACA
Indica o número de vezes que o coração bate, num minuto.

VELOCIDADE DE ONDA DE PULSO
É um parâmetro da rigidez arterial que permite detetar precocemente lesões nas artérias.

IDADE VASCULAR
Indica a idade das artérias.



PORQUE É IMPORTANTE CONHECER A IDADE DAS SUAS ARTÉRIAS?

O aumento da rigidez arterial faz com que, em algumas pessoas, a idade das artérias seja mais elevada do que a sua idade cronológica. Nestes casos, a probabilidade de ocorrer uma doença cardiovascular, como enfarte ou acidente vascular cerebral (AVC), é mais elevada do que na restante população.

No entanto, com o controlo cuidadoso dos fatores de risco cardiovascular presentes, é possível retardar o envelhecimento prematuro das suas artérias e diminuir o risco de doença cardiovascular.

Faça a avaliação numa Farmácia Holon e conheça a idade das suas artérias.