



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

Ana Margarida Teixeira Farinha

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Potencial dos Esteróides Neuroprotetores na Prevenção de Doenças Neurodegenerativas” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação do Professor Doutor Alcino Jorge Lopes Leitão, Dra. Joana Martins de Carvalho e Dr. Marcos Monteiro apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019

Ana Margarida Teixeira Farinha

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Potencial dos Esteróides Neuroprotetores na Prevenção de Doenças Neurodegenerativas” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação do Professor Doutor Alcino Jorge Lopes Leitão, Dra. Joana Martins de Carvalho e Dr. Marcos Monteiro apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Eu, Ana Margarida Teixeira Farinha, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2014195681, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “O Potencial dos Esteróides Neuroprotetores na Prevenção de Doenças Neurodegenerativas” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular 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, 6 de setembro de 2019

Ana Margarida Teixeira Farinha

Agradecimentos

A presente monografia e relatórios de estágio representam o culminar de uma importante etapa do meu percurso académico, pelo que não poderia deixar de agradecer a todos os que me apoiaram:

Ao Professor Doutor Alcino Leitão, orientador da minha monografia, por toda a disponibilidade, apoio e dedicação.

À Dra. Joana Carvalho, orientadora do estágio em farmácia comunitária, que me acolheu desde o primeiro dia e me acompanhou ao longo destes quatro meses de estágio, mostrando-se sempre disponível para me ajudar e esclarecer quaisquer dúvidas que fossem surgindo tendo sido depositado uma grande confiança em mim.

A toda a equipa técnica da Farmácia Rodrigues da Silva, Dr. Pedro Amaro, Dra. Raquel Silva e Dr. Rui Lopes, pela simpatia com que me acolheram, pelos conhecimentos transmitidos e por toda a ajuda e disponibilidade.

Ao Dr. Marcos Monteiro pela disponibilidade, apoio, dedicação e conhecimentos transmitidos.

A todos os colaboradores da Bluepharma, em especial aos colaboradores do Apoio ao Galénico que tão bem me receberam e que sempre se mostraram disponíveis para esclarecer qualquer dúvida.

Aos meus pais, por todo o amor e apoio, por sempre acreditarem em mim e nunca me deixarem desistir e por terem tornado estes cinco anos maravilhosos possíveis.

Aos meus avós, por todo o carinho e por saber que mesmo não estando junto de mim hoje estarão muito felizes por me ver concluir mais uma etapa do meu percurso.

A toda a minha família por todo o amor e compreensão.

À Beatriz e à Catarina, pelo apoio, carinho e amizade, por terem sido a minha família em Coimbra ao longo destes cinco anos, por todos os momentos partilhados, por todos os sorrisos e todas as lágrimas.

A todos os meus amigos, pela compreensão e apoio.

Índice

Parte I: O Potencial dos Esteróides Neuroprotetores na Prevenção de Doenças Neurodegenerativas

Abreviaturas	10
Resumo.....	12
Abstract.....	13
Introdução	14
1. Doenças Neurodegenerativas e o Potencial dos Esteróides.....	15
2. Estrogénios na doença de Alzheimer.....	16
2.1 Controlo dos níveis de A β a nível cerebral	18
2.1.1. Regulação da produção de A β	18
2.1.2. Regulação do transporte de A β	19
2.1.3. Regulação dos mecanismos de degradação e eliminação de A β	19
2.2 Estimulação da síntese de vesícula de APP na rede trans do complexo de Golgi.....	20
2.3 Regulação da desfosforilação da proteína tau.....	22
3. Progesterona na doença de Alzheimer.....	25
3.1 Inibição da neuroinflamação por redução do stress oxidativo no RE.....	25
3.2 Inibição da neuroinflamação por estimulação da autofagia em astrócitos	26
4. Desenvolvimento de Novos Fármacos Esteróides	27
5. Perspetivas Futuras.....	29
Conclusão	30

Parte 2: Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas	32
Introdução	33
Análise Swot.....	34

Pontos Fortes.....	34
Pontos Fracos	37
Oportunidades.....	37
Ameaças	38
Casos Clínicos	39
Conclusão	41

Parte 3: Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Abreviaturas	43
Introdução	44
Análise Swot.....	45
Pontos Fortes.....	45
Pontos Fracos	46
Oportunidades.....	47
Ameaças	48
Conclusão	49
Referências Bibliográficas	50

Índice de Figuras

Figura 1 - Mecanismos de Neurodegenerescência. (Figura adaptada de Bansal,R. (2017))

Figura 2 - Mecanismos de Neurodegenerescência associados à diminuição de estrogénios. (Figura adaptada de Duarte, A.C. (2016))

Figura 3 - Variação da concentração das vesículas transportadoras de APP na presença e ausência de 17 β -estradiol. (Figura adaptada de Xu, H. (2006))

Figura 4 - Concentração de PI nas vesículas transportadoras de APP e TGN na presença e ausência de 17 β -estradiol. (Figura adaptada de Xu, H. (2006))

Figura 5 - Variação da concentração de proteína tau fosforilada na presença e ausência de 17 β -estradiol em diversas concentrações. (Figura adaptada Zhang, Z. (2010)).

Figura 6 - Influência do Fluvestrant na prevenção da hiperfosforilação mediada por 17 β -estradiol. (Figura adaptada de Zhang, Z. (2010))

Figura 7 - Influência do 17 β -estradiol nos níveis de cdk5 na presença de OA bem como na presença e ausência de ICI. (Figura adaptada de Zhang, Z. (2010))

Figura 8 - Influência da presença de PG nos níveis de eIF2 α e IL- β . (Figura adaptada de Yang, H. (2016))

Figura 9 - Variação da concentração de IL- β e TNF α em astrócitos tratados com PG, na presença e ausência de 3-MA. (Figura adaptada de Yang, H. (2017))

Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Parte I

O Potencial dos Esteróides Neuroprotetores na Prevenção de Doenças Neurodegenerativas

Ana Margarida Teixeira Farinha

Monografia no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas orientado pelo Professor Doutor Alcino Jorge Lopes Leitão e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro de 2019



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Abreviaturas

A β - Substância β -amilóide

ABCA1 - transportadores ABC da subfamília A1

ALLOP - Alopregnanolona

APP - Proteína Precursora Amilóide (do Inglês, *Amyloid Precursor Protein*)

ApoE - Apolipoproteína E

BHE - Barreira Hematoencefálica

CEE - Estrogénio Equinoconjugado (do Inglês, *Conjugated Equine Estrogens*)

COX - Cicloxigenase

DA - Doença de Alzheimer

ER - Recetores de Estrogénio (do Inglês, *Estrogen Receptor*)

EUA - Estados Unidos da América

GFAP - Proteínas Acídicas Fibrilares Gliais (do Inglês, *Glial Fibrillary Acidic Protein*)

Iba1 - Moléculas Adaptadoras de Ligação ao Cálcio Ionizado 1 (do Inglês, *ionized calcium binding adaptor molecule 1*)

ICI 182,780 - Fulvestrant

IDE - Enzima de Degradação da Insulina ou Insulinasina

MAP - Proteínas Associadas aos Microtúbulos (do Inglês, *Microtubule-associated Proteins*)

MPA - Acetato de Medroxiprogesterona (do Inglês, *Medroxyprogesterone Acetate*)

NEP - Neprilisina

NFTs - Novos Neurofibrilares (do Inglês, *Neurofibrillary Tangles*)

AO - Ácido Ocadáico (do Inglês, *Okadaic Acid*)

OCDE - Organização de Cooperação e Desenvolvimento Económico

OMS - Organização Mundial de Saúde

PG - Progesterona

PI - Fosfatidilinositol

RAPA - Rapamicina

RE - Retículo Endoplasmático

ROS - Espécies Reativas de Oxigénio (do Inglês, *Reactive Oxygen Species*)

R-NMDA - Receptores do Glutamato

SAL - Salubrinal

sAPP β - fragmento solúvel β

sAPP α - fragmento solúvel α

SERMs - moduladores seletivos dos recetores de estrogénio (do Inglês, *Selective Estrogen Receptor Modulators*)

SNC - Sistema Nervoso Central

TGN - Rede trans do Complexo de Golgi (do Inglês, *Trans-Golgi Network*)

TTR - Transtirretina

WHIMS - *Women's Health Initiative Memory Study*

17 β -E2 - 17 β -estradiol

17 β -HSD10 - 17 β -hidroxiesteróide Desidrogenase Tipo 10

Resumo

As doenças neurodegenerativas, dada a sua crescente prevalência, são atualmente vistas pela Organização Mundial de Saúde como uma ameaça no que toca à saúde pública global. Apesar da sua fisiopatologia não estar ainda totalmente esclarecida estas estão normalmente associadas à perda das capacidades cognitivas e por isso ao decréscimo da qualidade de vida dos doentes.

A Doença de Alzheimer constitui a principal causa de demência a nível mundial, estando na base de 60 a 70 % dos casos, número que poderá triplicar até 2050. Em Portugal, e segundo dados de 2017, existem cerca de 19,9 casos por cada mil habitantes. Apesar dos mecanismos por detrás desta doença não estarem ainda totalmente elucidados pensa-se que a acumulação de placas senis e novelos neurofibrilares favorece a perda sináptica e neuronal levando consequentemente à perda de memória e capacidades cognitivas e em alguns casos à incapacidade de realização das tarefas do dia-a-dia. Assim sendo, e apesar da sua crescente prevalência e das consequências na qualidade de vida dos doentes, não existe ainda cura para a doença de Alzheimer. Os tratamentos existentes atualmente, que incluem os inibidores da acetilcolinesterase e os antagonistas dos recetores do glutamato, focam-se principalmente no controlo da sintomatologia da doença não prevenindo a sua progressão.

Neste âmbito, surgiram os primeiros estudos relativos ao potencial dos esteróides, como o caso dos estrogénios e progesterona, nas doenças neurodegenerativas que demonstraram que estes apresentam uma grande capacidade neuroprotetora atuando a diversos níveis e impediendo a lesão e perda neuronal. Assim sendo, e tendo em conta estes resultados, os esteróides são atualmente vistos como compostos promissores no que toca ao futuro da terapêutica da Doença de Alzheimer.

Palavras – Chave: Doenças neurodegenerativas; Doença de Alzheimer; Neuroproteção; Esteróides

Abstract

Nowadays, neurodegenerative disorders are seen by the World Health Organization as a threat for the public health because of its growing prevalence. Although the physiopathology is unclear it normally leads to loss of cognitive capacities and decrease in the patients' quality of life.

Alzheimer's disease is the most common cause of dementia worldwide, it is in the base of 60 to 70% of the cases and this number could triplicate until 2050. In Portugal, there are 19,9 cases per one thousand habitants in 2017. Although the mechanisms behind this disease are not totally clarified it was found that the accumulation of senile plaques and neurofibrillary tangles leads to neuronal and synaptic loss which consequently lead to memory and cognitive capacities loss and in some cases to inability to perform the daily tasks. Although the prevalence of this disease is increasing and its impact on patients' quality of life there is no cure for Alzheimer's disease. The actual treatments with acetylcholinesterase inhibitors and NMDA receptor antagonists are focused on symptoms control but do not prevent the disease progression.

In this context, the first studies on the potential of steroids, like estrogens and progesterone, in neurodegenerative diseases emerged. These studies have shown that the steroids have a great neuroprotective capacity, acting in various ways and preventing neuronal injury and loss. Given these results, steroids are now seen as promising compounds for the future of Alzheimer's disease therapy.

Keywords: Neurodegenerative disorders; Alzheimer's disease; Neuroprotection, Steroids

Introdução

As doenças neurodegenerativas representam atualmente uma grande ameaça para a saúde humana, sendo reconhecidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma prioridade no que toca à saúde pública global. Estas apresentam uma crescente prevalência que tem vindo a ser associada não só ao aumento da esperança média de vida e consequente envelhecimento da população como também a fatores genéticos. Apesar de apresentarem uma grande variabilidade fisiopatológica estas patologias levam geralmente a perda de memória e das capacidades cognitivas podendo também afetar a capacidade de locomoção, fala e até mesmo de respiração^{1,2}.

Entre as diversas doenças neurodegenerativas destaca-se a doença de Alzheimer (DA) uma vez que constitui a principal causa de demência a nível mundial já que segundo a OMS existem em todo o mundo cerca de 47,5 milhões casos de demência dos quais 60 a 70% têm origem na DA, número este que poderá vir a triplicar até 2050. Em Portugal esta é uma patologia com uma prevalência bastante significativa afetando cerca de 182 mil pessoas sendo por isso o quarto país da Organização de Cooperação e Desenvolvimento Económico (OCDE) com maior número de casos por cada mil habitantes (19,9 casos por cada mil habitantes)³.

Atualmente, não existe nenhum tratamento que evite a progressão da DA sendo que as terapêuticas disponíveis se focam no controlo da sintomatologia da doença. Para tal estão aprovadas duas classes de fármacos: os inibidores da acetilcolinesterase, como o donepezilo e a rivastigmina, que ao inibirem a hidrólise da acetilcolina aumentam a estimulação dos recetores colinérgicos; e os antagonistas dos recetores do glutamato, que protegem os neurónios da excitotoxicidade provocada pelo glutamato. No entanto, e tal com referido anteriormente, espera-se que a prevalência desta patologia aumente drasticamente pelo que é premente o desenvolvimento de novas terapêuticas que tratem ou retardem a evolução da mesma. É neste sentido que surgem os estudos relativos ao papel dos esteróides como neuroprotetores que têm apresentado resultados bastante promissores e demonstrado o seu potencial para o desenvolvimento de novas terapêuticas para a DA⁴.

I. Doenças Neurodegenerativas e o Potencial dos Esteróides

O termo neurodegenerescência refere-se ao dano progressivo da estrutura e/ou perda das atividades funcionais das células nervosas e neurónios, podendo este ser provocado por diversos mecanismos (Figura I), nomeadamente stress oxidativo, em que a produção excessiva de espécies reativas de oxigénio (ROS) leva a um desequilíbrio da homeostase de fatores oxidantes e antioxidantes; disfunção mitocondrial que se deve principalmente a alteração de proteínas de fusão o que induz alongamento e fragmentação mitocondrial e consequentemente perda da sua função energética; excitotoxicidade que consiste num processo que leva à lesão ou morte celular devido a uma excessiva excitação neuronal dos recetores do glutamato (R-NMDA); neuroinflamação, *i. e.*, inflamação dos tecidos nervosos do sistema nervoso central (SNC) que consequentemente promove stress oxidativo e nitrosativo; e desregulação da apoptose celular pois apesar deste ser um processo essencial à neurogênese, a sua desregulação e promoção excessiva poderá levar à morte de uma ou mais população de neurónios e consequentemente ao desenvolvimento de uma doença neurodegenerativa⁵.

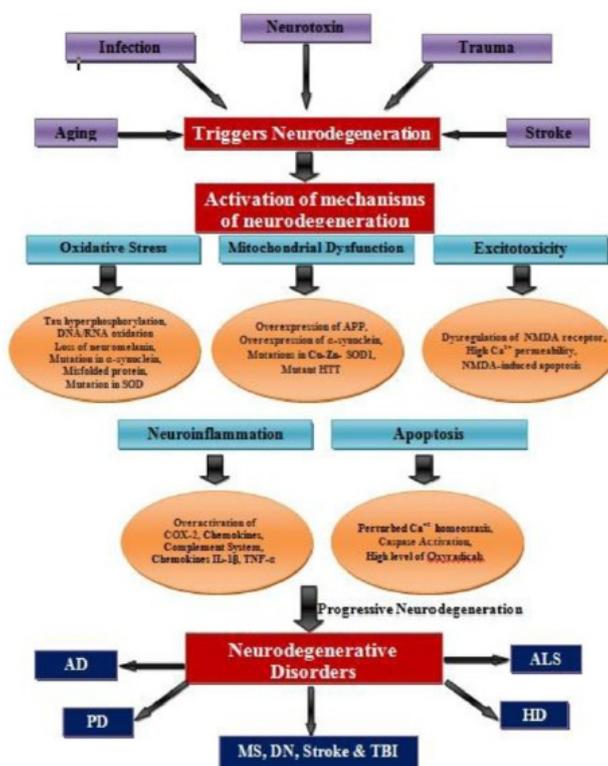


Figura I - Mecanismos de Neurodegenerescência. AD- Alzheimer's Disease, ALS- Amyotrophic lateral sclerosis, DN- Diabetic neuropathy, HD- Huntington disease, MS- Multiple sclerosis, PD-Parkinson's Disease, TBI- Traumatic brain injury, (Adaptado de Bansal, R. (2017))⁵

Entre as doenças neurodegenerativas, a DA caracteriza-se pela perda de memória e de outras capacidades cognitivas como a fala e a capacidade de resolução de problemas, afetando a aptidão dos indivíduos para realizarem as suas tarefas diárias. Apesar dos mecanismos por detrás desta patologia não estarem ainda totalmente clarificados, a teoria com mais suporte científico é a hipótese da cascata β -amilóide sugerindo que, devido à consecutiva clivagem da proteína precursora amilóide (APP) pelas β e γ -secretases, ocorre um desequilíbrio entre a produção e eliminação da substância β -amilóide ($A\beta$) levando à sua agregação e consequente acumulação extracelular de placas senis de peptídeo β -amilóide. Posteriormente, este mecanismo leva à hiperfosforilação da proteína Tau e à formação de filamentos em forma de hélice, que se organizam emovelos designadosovelos neurofibrilares (NFTs) e se acumulam a nível intracelular. A acumulação de placas senis e NFTs favorece a perda da homeostase iónica, stress oxidativo e neuroinflamação, levando a perda sináptica e neuronal^{6,7}.

Assim sendo, e dada a perspectiva do drástico aumento do número de indivíduos com Alzheimer, bem como o impacto desta patologia na qualidade de vida dos indivíduos, a DA tem vindo a ganhar uma maior dimensão enquanto problema socioeconómico a nível mundial pelo que é premente o desenvolvimento de terapias eficazes para esta doença. É nesta ótica que, após diversas pesquisas, surgem as primeiras evidências do potencial dos esteróides na prevenção das doenças neurodegenerativas. Atualmente pensa-se que os esteróides poderão ser preponderantes na prevenção e tratamento da DA, uma vez que demonstraram ser indutores de neuroprotecção através de diversos mecanismos com a capacidade de impedir a lesão das células nervosas, evitando assim a neurodegenerescência. O conhecimento da estrutura e mecanismos de ação dos mesmos, bem como possíveis alterações estruturais poderão ser bastante promissoras no desenvolvimento de novas terapêuticas^{1,5}.

2. Estrogénios na doença de Alzheimer

Tal como descrito anteriormente a DA é uma doença neurodegenerativa que pode evoluir desde um comprometimento cognitivo ligeiro a um estado de demência. O risco de desenvolver esta doença bem como de uma maior evolução e severidade da mesma é bastante diferente entre os dois sexos, sendo que a incidência é cerca de duas a três vezes maior na mulher comparativamente ao homem. Verificou-se ainda que uma menopausa prematura aumenta, a longo termo, o risco de demência e que a severidade da disfunção cognitiva no mesmo estágio da doença é significativamente superior na mulher do que no homem, o que

se tem vindo a associar à abrupta redução do nível de estrogénios na mulher após a menopausa, sendo que, as concentrações de 17 β -estradiol (17 β -E2) podem diminuir de 200-300 pmol/L pré-menopausa para 30 pmol/L pós-menopausa⁸.

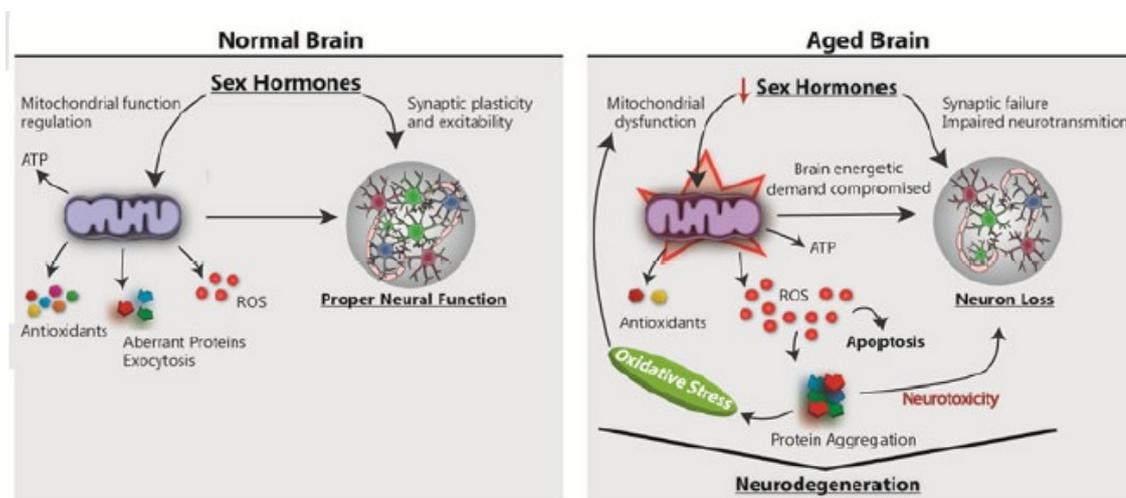


Figura 2- Mecanismos de Neurodegenerescência associados à diminuição de estrogénios. ATP- Adenosine triphosphate, ROS- Reactive oxygen species. (Figura adaptada de Duarte, A.C. (2016))⁸

Desde o início dos anos 90 que surgiram evidências da ação das hormonas sexuais como neuroprotetores, mas este tem vindo a ser um percurso com altos e baixos já que, apesar dos primeiros estudos indicarem que a terapia hormonal de substituição, administrada pós-menopausa para atenuar os sintomas provocados pela diminuição dos níveis de estrogénio, reduzia o risco de desenvolvimento de DA e retardava a evolução do défice cognitivo associado à mesma, em 2003 o primeiro estudo em larga escala sobre esta temática, o **Women's Health Initiative Memory Study (WHIMS)** veio contradizer as conclusões anteriormente descritas⁹. Trata-se de um ensaio clínico, multicêntrico, aleatório, duplamente cego e controlado por placebo que envolveu 7479 mulheres com idade igual ou superior a 65 anos, em que a um grupo de 4352 mulheres foi administrado estrogénio equino conjugado (CEE) e acetato de medroxiprogesterona (MPA) e às restantes 2947 foi administrado um placebo¹⁰. Segundo o estudo, conclui-se que o uso de terapia hormonal de substituição não é recomendado para a prevenção de DA em mulheres com idade igual ou superior a 65 anos. No entanto, existem vários fatores que justificam estes resultados negativos nomeadamente a idade das participantes (entre os 65 e 79 anos de idade), o que constitui à partida um fator de risco para doenças cardiovasculares e neurológicas; a existência de uma janela crítica para o início da terapêutica, sendo que os resultados mais promissores foram conseguidos quando a terapêutica se iniciou logo após a menopausa enquanto que, neste caso, o tratamento foi

iniciado bastante tarde relativamente ao início da mesma; e de ter sido administrada uma associação de CEE e MPA e não 17 β -estradiol que demonstrou noutros estudos ter resultados mais promissores, já que tem uma maior capacidade de difundir para o cérebro do que o sulfato de estrona (principal metabolito do CEE). Para além disto, neste estudo apenas foi realizado um tipo de teste para avaliar a função cognitiva, que não permitiu avaliar os efeitos ao nível da memória verbal, que tem sido evidenciado como um dos resultados mais efetivos do tratamento com estrogénios. Assim sendo, e apesar de inicialmente o WHIMS ter aparentemente deitado por terra as perspetivas auspiciosas do uso de estrogénios, este acabou por levantar novas questões e dar mais força à necessidade de desenvolvimento de novos ensaios, que até agora têm demonstrado resultados bastante positivos, clarificando alguns dos mecanismos de neuroproteção⁹.

Inicialmente os estudos realizados em roedores indicavam que a ação neuroprotetora dos estrogénios estaria associada à ação antioxidante, dada a sua estrutura fenólica, e à sua ação anti-inflamatória. No entanto, têm vindo a ser demonstrados diversos mecanismos de neuroproteção, nomeadamente os que envolvem o peptídeo A β e a proteína tau, os quais serão desenvolvidos de seguida¹¹.

2.1 Controlo dos níveis de A β a nível cerebral

2.1.1. Regulação da produção de A β

A APP é processada pela ação consecutiva das α -, β - e γ -secretases levando à formação do peptídeo A β . Este é um processo que ocorre ao nível dos neurónios e aparenta ser essencial para a memória e aprendizagem. A produção de A β inicia-se com a clivagem da APP, esta pode ser clivada pela β -secretase que leva à formação do fragmento solúvel β (sAPP β), e do fragmento C99, sendo de seguida clivado pela γ -secretase levando à produção de peptídeo A β , pelo que esta via se designa de mecanismo amiloidogénico. No entanto, a APP pode também ser clivada pela α -secretase levando a formação de fragmento solúvel α (sAPP α) e do fragmento C83 que permanece ligado à membrana. Seguidamente, a γ -secretase cliva a porção C-terminal, havendo formação de um domínio intracelular de APP e de um fragmento que é libertado para o espaço extracelular, o que se designa como mecanismo não amiloidogénico já que não ocorre formação de A β . Estes processos demonstraram ser regulados pelos estrogénios, nomeadamente pelo 17 β -E2, que promove o processamento da APP pelo

mecanismo não amiloidogénico, através da estimulação da expressão e atividade da α -secretase e diminuição da concentração e atividade da β -secretase, levando a uma menor formação de $A\beta$. Para além disto, o 17β -E2, reduz a produção de $A\beta$ através da inibição do transporte de APP para a rede trans do Complexo de Golgi (TGN), onde ocorre principalmente o mecanismo amiloidogénico havendo assim uma inibição do mesmo. A ação dos estrogénios é também conseguida através da sua ligação à membrana e consequente estimulação da proteína cinase-C que aumenta a secreção de $sAPP\alpha$ e reduz os níveis de $sAPP\beta$ e $A\beta$ ⁸.

2.1.2. Regulação do transporte de $A\beta$

A barreira hematoencefálica (BHE) tem a função de proteger o SNC de substâncias potencialmente neurotóxicas, no entanto, o transporte de $A\beta$ é mediado por diversos transportadores presentes na mesma dos quais se destacam os transportadores ABCA1, pertencentes à subfamília A1 dos transportadores ABC (ATP-binding cassette). Os transportadores ABCA1 são mediadores do efluxo de colesterol e da formação de lipoproteínas de elevada densidade, estando por isso envolvidos na formação da apolipoproteína E (ApoE) que degrada a substância $A\beta$. Este transportador está relacionado com a DA, na medida em que se verificou que a diminuição do mesmo leva a uma redução dos níveis de ApoE e consequentemente a uma acumulação de $A\beta$. Desta forma, ensaios que envolveram ratos *knock-out* para o transportador ABCA1 demonstraram que a administração de 17β -estradiol aumenta a expressão hepática de ABCA1, mediada por recetores de estrogénio- β , o que evita a formação de placas senis por agregação de $A\beta$ ⁸.

2.1.3. Regulação dos mecanismos de degradação e eliminação de $A\beta$

A eliminação da substância $A\beta$ do líquido cefalorraquidiano e linfa é mediada por diversas peptidases que têm a capacidade de a degradar, sendo esta ação regulada pelos estrogénios, por diversos processos de acordo com a enzima em questão. De entre estas peptidases destacam-se, por exemplo, a transtirretina (TTR), a enzima de degradação da insulina ou insulicina (IDE) e a neprilisina (NEP). A TTR é o principal transportador da proteína de ligação do retinol e da tiroxina (T4), tendo também a capacidade de sequestrar e eliminar a substância $A\beta$ impedindo a sua agregação. Verificou-se que em mulheres com DA as

concentrações desta enzima se encontram diminuídas quando comparadas com mulheres saudáveis, no entanto, em estudos desenvolvidos em ratos transgênicos para a DA, a administração de 17 β -estradiol demonstrou aumentar as concentrações de TTR e consequentemente diminuir a acumulação de A β a nível cerebral. A IDE é uma metaloprotease que cliva a insulina e que desempenha também um papel importante na eliminação de A β estando envolvida na hidrólise da mesma. Verificou-se que a concentração de IDE se encontra diminuída em modelos de ratos transgênicos para a DA e que a administração de 17 β -estradiol aumenta estes mesmos níveis, promovendo a hidrólise de A β e atenuando a sua agregação e consequente formação de placas senis. A NEP é uma metalopeptidase da família M13, que apresenta um papel importante na inibição da deposição de A β , estando presente em diversas áreas do cérebro. Vários estudos demonstraram que os níveis desta enzima variam de acordo com as concentrações de estrogénios. Neste âmbito desenvolveram-se estudos em ratos fêmeas ovariectomizados que apresentavam por isso baixos níveis de NEP, aos quais foi administrado 17 β -estradiol, que demonstrou reverter esse efeito da cirurgia fazendo por isso aumentar os níveis de NEP reduzindo assim a acumulação de A β ^{8,12}.

Para além destas é de referir a enzima de conversão da angiotensina, uma vez que desempenha funções na degradação da substância A β . Esta apresenta concentrações reduzidas pós-menopausa tendo-se verificado que a administração de 17 β -estradiol reverte este efeito impedindo a agregação de A β ⁸.

2.2 Estimulação da síntese de vesícula de APP na rede trans do complexo de Golgi

O peptídeo A β é formado a partir de sucessivas clivagens da APP, sendo que este é maioritariamente encontrado ao nível do TGN uma vez que é também aí que se encontram níveis mais elevados de APP. Determinou-se que a clivagem da APP pela α -secretase com formação de sAPP α ocorre ao nível da membrana plasmática sendo para isso necessário a formação de vesículas que transportem a APP do TGN para a membrana citoplasmática. Pensa-se que a formação destas mesmas vesículas estará relacionada com o balanço entre a formação de sAPP α (mecanismo não amiloidogénico) ou de peptídeo A β (mecanismo amiloidogénico). Dado que os esteróides têm a capacidade de aumentar o fluxo de proteínas do TGN para a membrana, realizaram-se estudos no sentido de determinar se os estrogénios

poderiam assumir o mesmo papel, tendo sido demonstrado que ocorre um aumento das vesículas anteriormente referidas na presença de estrogénio. No entanto, e apesar dos mecanismos envolvidos nesta resposta aos estrogénios não estarem ainda totalmente elucidados, estudos realizados em linhas celulares, demonstraram que a presença de 17β -estradiol estimula a formação destas vesículas transportadoras levando à produção de $sAPP\alpha$ e a uma consequente diminuição na produção de $A\beta^{11}$. Um outro estudo¹¹ realizado em linhas celulares com sobreexpressão de APP permitiu concluir que quando administrado 17β -estradiol, a APP foi convertida em vesículas transportadoras, alcançado o dobro da concentração comparativamente ao grupo controlo, ao qual não foi administrado 17β -estradiol, como representado na Figura 3¹¹.

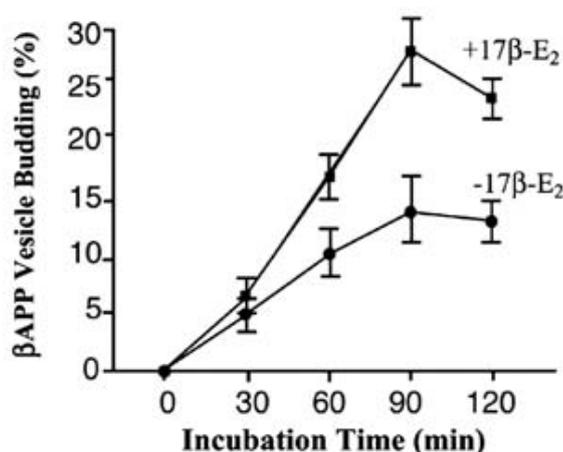


Figura 3- Variação da concentração das vesículas transportadoras de APP na presença e ausência de 17β -E₂. 17β -E₂ - 17β -estradiol. (Figura adaptada de Xu, H. (2006))¹¹

Com base nestes resultados colocou-se a hipótese da ação dos estrogénios ser mediada por uma GTPase citosólica, a Rab11, uma vez que se concluiu que, em células N2a, linhas celulares de neuroblastoma de rato tratadas com estrogénios, parte da Rab11 era translocada do citosol para as membranas da mitocôndria, retículo endoplasmático (RE), TGN e vesículas transportadoras de APP, sugerindo uma possível ligação entre a ação dos estrogénios e esta translocação. Esta hipótese foi testada em células N2a nas quais foi sobreexpressa uma Rab11 alterada, que não consegue estabelecer ligação às membranas, tendo-se verificado um aumento da síntese de $A\beta$ ao nível do TGN o que sugere que a translocação da Rab11 para as membranas em resposta à presença de estrogénios poderá estar na base da ação dos mesmos na estimulação do transporte de APP para a membrana e consequente formação de $sAPP\alpha$. Para além disto foram analisados os níveis de fosfatidilinositol (PI), essencial à formação das vesículas transportadoras, no TGN e vesículas na presença e ausência

de estrogénios, tendo-se apurado que os níveis de PI aumentaram para o dobro na presença de estrogénio tendo também ocorrido transferência do mesmo do TGN para as vesículas o que levou por consequência a um incremento das mesmas, tal como representado na figura 4¹¹.

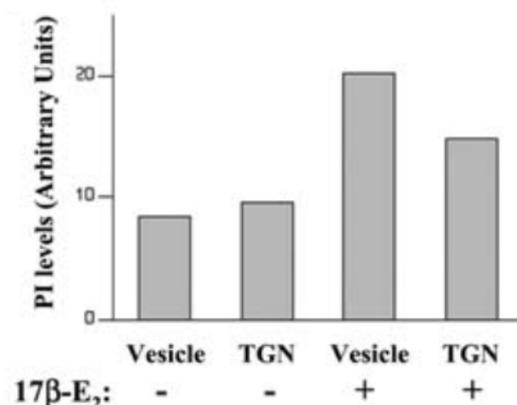


Figura 4- Concentração de PI nas vesículas transportadoras de APP e TGN na presença e ausência de 17β-E2. 17β-E2-17β-estradiol.(Figura adaptada de Xu, H. (2006))¹¹

Conclui-se também que na presença de estrogénios ocorre uma variação na composição lipídica das membranas, havendo uma diminuição de fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina e fosfatidilcolina na membrana do TGN e um aumento das mesmas na membrana das vesículas transportadoras de APP¹¹.

2.3 Regulação da desfosforilação da proteína tau

A proteína Tau pertence à família das proteínas associadas aos microtúbulos (MAP) cuja função é estabilizar os microtúbulos, fundamentais no processo de divisão celular, por agregação da tubulina. Em diversas patologias designadas como taupatias, como é o caso da DA, ocorre uma desregulação no processo de fosforilação da Tau que leva à sua acumulação na forma hiperfosforilada e consequente formação de NFTs que ficam acumulados. A forte evidência do papel dos estrogénios enquanto neuroprotetores levantou a hipótese de que estes poderiam também prevenir a hiperfosforilação da Tau. Para dar resposta a esta questão foram desenvolvidos diversos estudos que apresentaram resultados bastante promissores. Destes destaca-se um estudo realizado numa linha celular do neuroblastoma humano SH-SY5Y¹³, às quais foi administrado ácido ocadáico (OA), um indutor da fosforilação da Tau, na presença e ausência de 17β-estradiol em diferentes concentrações (0, 10 nM, 100 nM, 1 μM,

10 μM), tendo-se verificado que o OA induz efetivamente a fosforilação da Tau quando administrado isoladamente, no entanto este processo é mitigado na presença de 17 β -estradiol, de uma forma dose-dependente, sendo que inclusivamente se obtêm níveis de fosforilação considerados normais quando administrada uma dose de 10 μM de 17 β -estradiol tal como é elucidado na Figura 5^{12,13}.

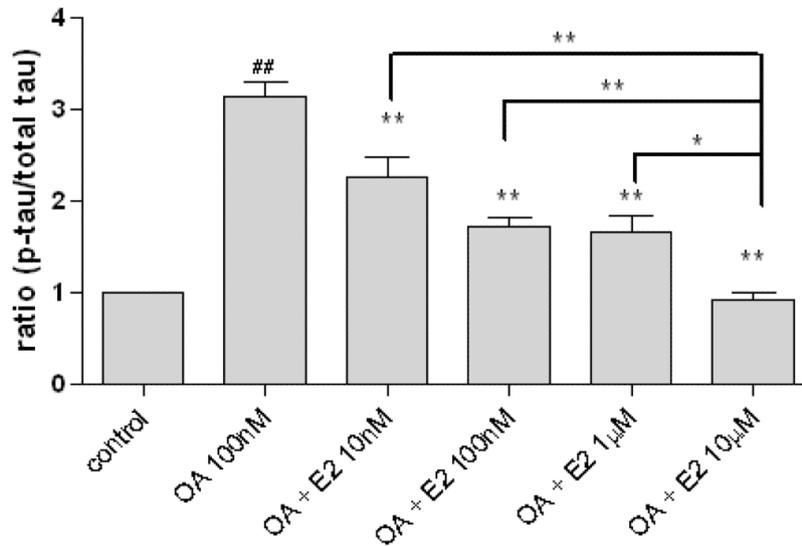


Figura 5- Variação da concentração de proteína tau fosforilada na presença e ausência de 17 β -estradiol em diversas concentrações. OA- ácido ocadáico, E2- 17 β -estradiol. (Figura adaptada de Zhang, Z. (2010))¹³

Perante esta conclusão tornou-se importante perceber de que forma esta ação seria mediada pelos recetores de estrogénio (ER). Para tal, trataram-se células SH-SY5Y com 17 β -E2 na presença e ausência de OA e de Fulvestrant (ICI 182,780), um antagonista dos ER. Tal como representado na Figura 6, determinou-se que na presença de Fulvestrant o efeito do 17 β -E2 é parcialmente bloqueado, o que demonstra o envolvimento ER na ação dos 17 β -E2 já que ao antagonizar os mesmos ocorre um bloqueio deste processo¹³.

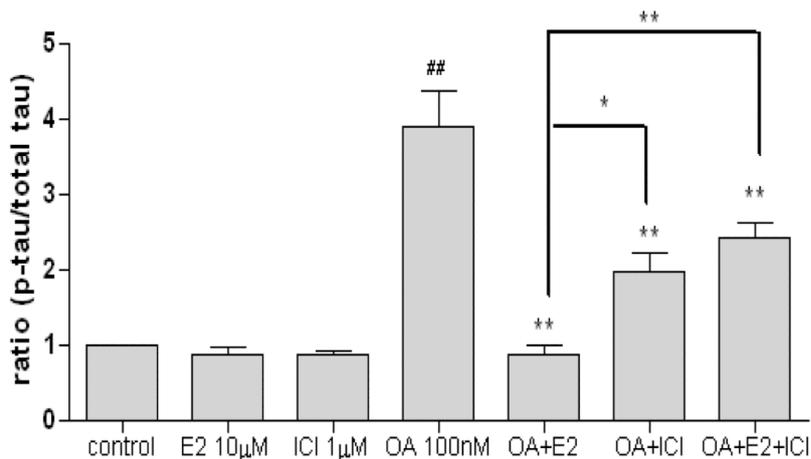


Figura 6- Influência do Fluvestrant na prevenção da hiperfosforilação mediada por 17β-estradiol. OA- ácido ocadáico, E2- 17β-estradiol, ICI- Fluvestrant. (Figura adaptada de Zhang, Z. (2010))¹³

De forma a dar respostas mais concretas sobre este processo, analisou-se de que forma os estrogénios poderiam atuar sobre as cinases que fosforilam a Tau, para isso, trataram-se células SH-SY5Y com OA na presença e ausência de 17β-estradiol e ICI 182,780, e passadas três horas determinou-se a concentração de determinadas cinases envolvidas na fosforilação da Tau, como é o caso da cdk5, tendo-se concluído que, tal como seria expectável, o OA administrado isoladamente estimula a produção de cdk5. Por outro lado, este aumento é atenuado na presença de 17β-estradiol isolado, sendo que a administração de ICI 182,780 isoladamente não apresenta qualquer ação. Determinou-se ainda que na presença de ICI 182,780 o efeito de 17β-estradiol é parcialmente bloqueado, tal como é representado na figura abaixo¹³.

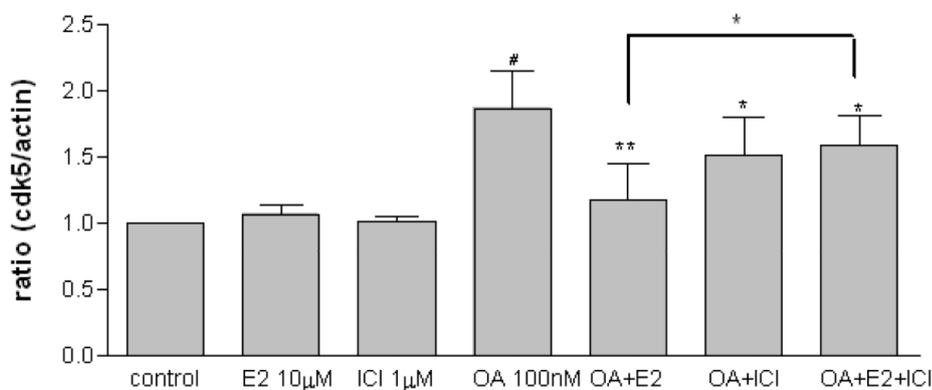


Figura 7- Influência do 17β-estradiol nos níveis de cdk5 na presença de OA bem como na presença e ausência de Fluvestrant. OA- ácido ocadáico, E2- 17β-estradiol, ICI- Fluvestrant. (Figura adaptada de Zhang, Z. (2010))¹³

3. Progesterona na doença de Alzheimer

Recentemente a neuroinflamação tem vindo a ser considerada um fator patológico crítico da DA, já que, apesar de ser um mecanismo ainda pouco esclarecido, se determinou que a deposição de A β induz uma resposta inflamatória nos astrócitos levando a libertação de moléculas pró-inflamatórias, como fatores de crescimento e citocinas, por exemplo interleucina-1 β (IL-1 β) e fator de necrose tumoral (TNF- α), o que afeta os mecanismos neurofisiológicos relacionados com a memória e aprendizagem. Alguns estudos em ratos modelo para a DA permitiram verificar que nesta patologia ocorre um decréscimo dos níveis de progesterona (PG) no cérebro e que a injeção da mesma faz aumentar as capacidades cognitivas, tendo-se então concluído que a PG apresenta propriedades neuroprotetoras, inibindo a neuroinflamação por pelo menos dois mecanismos, a redução do stress oxidativo no RE e a estimulação da autofagia nos astrócitos¹⁴.

3.1 Inibição da neuroinflamação por redução do stress oxidativo no RE

Um estudo realizado em linhas celulares de astrócitos demonstrou que a deposição de A β induz stress oxidativo ao nível do RE, uma vez que esta deposição leva ao aumento da expressão de eIF2 α , um fator eucariótico necessário à tradução que medeia a ligação entre o tRNA e o ribossoma, e conseqüentemente à libertação de citocinas pró-inflamatórias como a de IL-1 β e TNF- α . Por outro lado, e tal como representado na figura 8, esse mesmo estudo permitiu concluir que a PG inibe o stress oxidativo no RE, tendo sido demonstrado que o tratamento destas linhas celulares de astrócitos com PG na presença de A β leva uma diminuição dos níveis de eIF2 α e conseqüentemente da secreção de IL-1 β e TNF- α , tal como se verifica quando estas células são tratadas com Salubrial (Sal) um inibidor da eIF2 α ¹⁴.

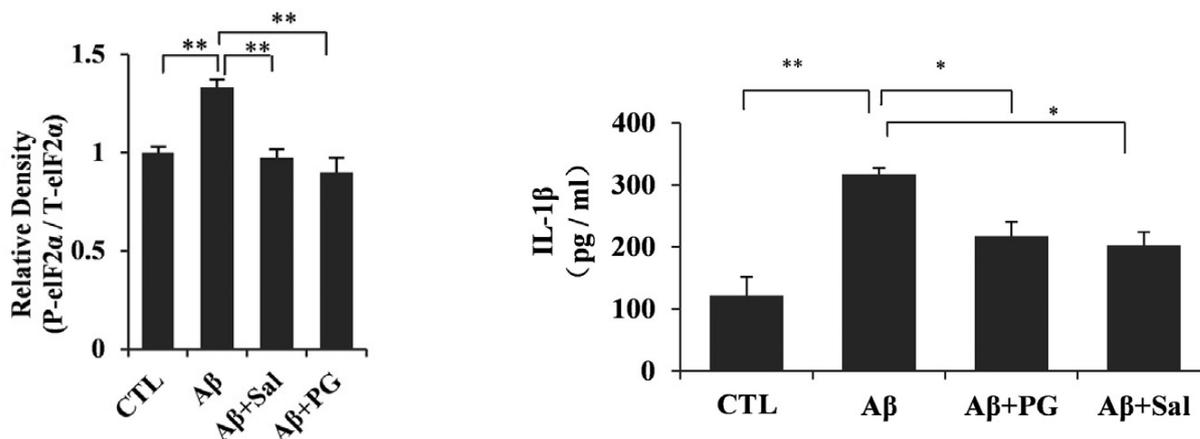


Figura 8- Influência da presença de PG nos níveis de eIF2 α e IL- β . CTL- controlo, Sal- Salubrinal, PG- progesterona. (Figura adaptada de Yang, H. (2016))¹⁴

3.2 Inibição da neuroinflamação por estimulação da autofagia em astrócitos

Diversos estudos demonstraram que a autofagia, um processo catabólico intracelular essencial à eliminação de agregados proteicos tóxicos, se encontra alterada na DA estando associada à progressão da mesma. Alguns dados que indicavam que a PG regula a autofagia levaram à elaboração de um estudo com o objetivo de perceber qual o mecanismo que se encontra por detrás desta interação. Neste estudo, realizado em linhas celulares de astrócitos, começou por se verificar se a indução da autofagia inibia o efeito pró-inflamatório de A β , tratando-se as linhas celulares com Rapamicina (RAPA), um indutor da autofagia, na presença de A β e concluiu-se que havia uma redução da secreção de IL- β e TNF- α , e por isso do efeito pró-inflamatório. Posteriormente estas linhas celulares foram tratadas com PG na presença de A β tendo-se verificado que, tal como ocorria com a RAPA, a PG apresentava capacidade de estimular a autofagia já que ocorria também diminuição da concentração de IL- β e TNF- α . De forma a confirmar os resultados anteriormente descritos, as linhas celulares foram tratadas com PG e RAPA na presença de um inibidor da autofagia, o 3-Methyladenine (3-MA), tendo-se observado que, neste caso, não ocorria diminuição de IL- β nem de TNF- α pelo que o efeito de PG e RAPA estaria a ser inibido. Estes resultados encontram-se explicitados na figura abaixo¹⁵.

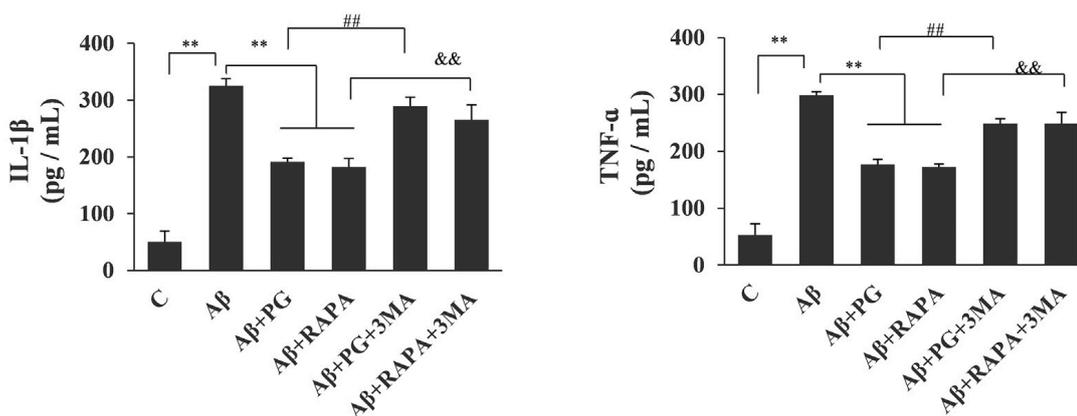


Figura 9 - Variação da concentração de IL- β e TNF α em astrócitos tratados com PG, na presença e ausência de 3-MA. IL-1 β - Interleucina 1- β , PG- Progesterona, RAPA-Rapamicina, TNF- α -Tumor necrosis factor, 3-MA - 3- Methyladenine (Figura adaptada de Yang, H. (2018))¹⁵

4. Desenvolvimento de Novos Fármacos Esteróides

Tendo em conta os dados anteriormente referidos, os esteróides têm vindo a demonstrar perspectivas promissoras no desenvolvimento de novas terapêuticas, quer para o tratamento da DA, quer para retardar a evolução e severidade desta doença. Surgiram, neste sentido, algumas patentes tanto nos Estados Unidos da América (EUA) como na Europa das quais se pode referir, como exemplo, a patente designada “Compounds Useful for Treating Neurodegenerative Disorders”, registada nos EUA com o número US 8,263,755 B2 a 11 de setembro de 2012. Esta patente apresenta métodos para a preparação de derivados sintéticos dos esteróides destinados ao tratamento da DA bem como os critérios de qualidade a serem cumpridos. Estes compostos podem ser preparados em formas farmacêuticas de administração por via oral, retal, parenteral, intratecal, intravaginal, intraperitoneal ou tópica, dependendo da fase da DA. Para além disto a administração pode ser feita individualmente ou simultaneamente com outros fármacos já utilizados no tratamento da DA como os inibidores da acetilcolinesterase, por exemplo donepezilo ou memantina, tendo em conta quer a compatibilidade das substâncias ativas quer das vias de administração. É também referido que já existem dados que indicam que estes compostos podem ser tomados concomitante com fármacos anti-inflamatórios, antiasmáticos, imunossupressores entre outros não apresentando qualquer interação *major*¹⁶.

Nos últimos anos, têm sido realizadas diversas pesquisas focadas na compreensão dos mecanismos por detrás da DA de forma a encontrar potenciais alvos terapêuticos. Desta forma percebeu-se que a 17 β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 10 (17 β -HSD10) poderia estar envolvida na fisiopatologia da DA, uma vez que esta enzima mitocondrial, catalisa a oxidação do 17 β -estradiol (17 β -E2) e da alopregnanolona (ALLOP), ambos neuroesteróides promotores da neurogênese e regeneração neuronal, e por isso relacionados com a prevenção da DA. Neste sentido surgiu a hipótese de que a inibição da 17 β -HSD10 poderia constituir um alvo terapêutica da DA, tendo-se realizado um ensaio em linhas celulares HEK-293 (Human Embryonic Kidney 293 cells) para determinar a capacidade de diversos derivados do andostrano inibirem a 17 β -HSD10, tendo-se determinado que um dos derivados do andostrano demonstra uma maior capacidade de inibição da oxidação do 17 β -E2 e ALLOP, relativamente aos restantes derivados. Assim sendo, este estudo abre porta para o desenvolvimento de um novo fármaco esteroide, inibidor da 17 β -HSD10, para a terapêutica da DA¹⁷.

Para além da DA, têm surgido evidências de que os esteróides poderão ter um papel relevante no tratamento de outras disfunções a nível neuronal. Desta forma, foram surgindo diversos estudos que demonstram as propriedades neuroprotetoras do estradiol, no entanto, o uso terapêutico do estradiol apresenta algumas limitações devido aos seus efeitos hormonais indesejados como é o caso do aumento do risco de cancro da mama. Com o intuito de ultrapassar estas limitações analisou-se a capacidade neuroprotetora dos moduladores seletivos dos recetores de estrogénio (SERMs) tendo-se concluído que estes apresentam a mesma capacidade neuroprotetora do estradiol sem exercerem os seus efeitos indesejados. Exemplo disto é um estudo realizado em ratos adultos, fêmeas, ovariectomizadas, com ferimentos a nível cerebral aos quais foi administrado tibolona, um SERM. Sete dias após o ferimento verificou-se que a administração de tibolona reduziu o número de proteínas acídicas fibrilares gliais (GFAP), de moléculas adaptadoras de ligação ao cálcio ionizado I (Iba1) e de astrócitos imunorreativos, todos eles resultantes da gliose reativa. Estes resultados indicam que a tibolona promove a homeostase a nível cerebral, inibindo a gliose reativa e os seus efeitos prejudiciais que levam à perda neuronal, pelo que a terapêutica com a mesma poderá ser uma mais valia no tratamento de diversas lesões a nível cerebral¹⁸.

5. Perspetivas Futuras

Perante os dados anteriormente descritos e as evidências dos ensaios clínicos a decorrer, os esteróides são atualmente considerados compostos bastante promissores no que toca ao desenvolvimento de novas terapêuticas para a DA.

Apesar de se terem já verificado algumas condicionantes, como a influência da idade com que se inicia o tratamento, o reduzido tempo de semivida, metabolismo acelerado e baixa biodisponibilidade dos esteróides naturais, não podem ser esquecidas todas as características auspiciosas dos mesmos tais como a sua natureza lipofílica, capacidade de transpor a BHE e inúmeros mecanismos pelos quais interagem com as células do SNC⁵.

Assim sendo, perspectiva-se que sejam desenvolvidos, futuramente, derivados sintéticos esteróides que ultrapassem estas condicionantes e que proporcionem, não só a prevenção da DA numa população envelhecida e por isso, cada vez mais propensa ao desenvolvimento desta patologia, mas também uma maior qualidade de vida e menor severidade da doença aos doentes de Alzheimer^{19,5}.

Conclusão

Os esteróides têm demonstrado um elevado potencial na neuroproteção e prevenção de doenças neurodegenerativas. Nos últimos anos têm sido realizados diversos estudos com o objetivo de compreender o papel dos esteróides na prevenção da DA, tendo sido demonstrado que tanto os estrogénios como a progesterona têm a capacidade de prevenir ou diminuir a severidade desta patologia por diversos mecanismos. De forma geral, os estrogénios têm a capacidade de controlar os níveis de A β a nível cerebral, de estimular a síntese de vesículas de APP na rede trans do complexo de Golgi, e ainda, de regular a desfosforilação da proteína TAU. Por outro lado, a progesterona atua inibindo a neuroinflamação, quer por redução do stress oxidativo no RE, quer por estimulação da autofagia em astrócitos.

Neste sentido, têm sido realizados alguns ensaios clínicos com o objetivo de determinar a eficácia, segurança e doses terapêuticas de alguns fármacos esteróides, havendo inclusivamente algumas patentes já registadas nos EUA.

Assim sendo, e com base nestes resultados que demonstram a ação neuroprotetora dos esteróides espera-se que, futuramente e tendo por base esta potencialidade, sejam desenvolvidas novas terapias para a DA, que travem a sua evolução e diminuam a sua severidade.

Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Parte 2

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Rodrigues da Silva

Ana Margarida Teixeira Farinha

Relatório no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas orientado pela Dra. Joana Carvalho e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Setembro de 2019



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Abreviaturas

FRS - Farmácia Rodrigues da Silva

INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde

MNSRM - Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

PA - Pressão Arterial

SWOT - Pontos fortes, Pontos fracos, Oportunidades e Ameaças (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*)

Introdução

A farmácia comunitária, dada a sua proximidade ao público, representa a vertente mais visível da atividade farmacêutica. Segundo o artigo 9º do Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, o farmacêutico assume uma papel de elevada importância, “cumprindo-lhe executar todas as tarefas que ao medicamento concernem, (...) contribuir para a salvaguarda da saúde pública e todas as ações de educação dirigidas à comunidade no âmbito da promoção da saúde”²⁰ tendo por isso um papel essencial no que toca ao uso racional dos medicamentos e promoção do bem-estar da comunidade.

O meu estágio curricular em farmácia comunitária realizou-se na Farmácia Rodrigues da Silva (FRS), em Coimbra, sob a orientação da diretora técnica Dra. Joana Marques Ganço Martins de Carvalho, no período de 7 de janeiro de 2019 a 30 de abril de 2019, num total de 670 horas.

Este relatório tem como objetivo realizar uma apreciação crítica do meu estágio, debruçando-me principalmente nos conhecimentos adquiridos, na minha prestação e no impacto na minha formação. Para tal irei seguir a estrutura de uma análise SWOT que se divide em duas partes a análise interna na qual se incluem os pontos fortes (S, Strengths) e pontos fracos (W, Weaknesses) e a análise externa que incide sobre as oportunidades (O, Opportunities) e as ameaças (T, Threats).

Análise Swot

Pontos Fortes

Localização e horário de funcionamento

A FRS localiza-se na avenida Ferreira Borges em plena baixa da Cidade de Coimbra. Sendo esta uma localização privilegiada já que para além de se localizar numa zona histórica da cidade com grande afluência de turistas existem também nas suas proximidades uma grande variedade de serviços, tais como escolas, bancos e clínicas privadas que aumentam a afluência de utentes. A farmácia funciona, semanalmente, das 8h30 as 19h, e ao sábado das 9h as 19h. Tendo também um horário sazonal, das 8h30 as 20h, de forma a dar resposta às necessidades dos utentes nos meses com maior afluência nomeadamente de maio a setembro. Para além disto cumpre dias de serviço permanente de forma rotativa com as restantes farmácias do distrito de Coimbra.

Integração na equipa

A equipa da FRS destaca-se por ser uma equipa bastante jovem e dinâmica constituída por quatro elementos, duas farmacêuticas, uma delas diretora técnica, um farmacêutico gestor e ainda por um técnico de farmácia, que desde o início do estágio me acolheram e integraram na dinâmica da equipa. Destaca-se o facto de ser uma equipa que representa a igualdade de género dentro da profissão já que é constituída por dois elementos do género feminino e dois do género masculino. É ainda de referir o profissionalismo e vasto conhecimento de todos os elementos da equipa nas mais diversas áreas do medicamento, bem como a sua capacidade de dar resposta às necessidades da farmácia e ao mesmo tempo acompanhar de perto o meu percurso enquanto estagiária.

Período de Estágio

O meu estágio realizou-se entre os meses de janeiro e abril, o que me permitiu contactar com uma maior variabilidade de produtos considerados sazonais, nomeadamente com produtos destinados a gripes e constipações no período de inverno bem como com antialérgicos, descongestionantes nasais e protetores solares que apresentam maior expressão na primavera nomeadamente no mês de março e abril.

Plano de estágio bem estruturado

O meu estágio seguiu um plano organizado e bem estruturado o que me permitiu uma adaptação progressiva ao dia-a-dia da farmácia comunitária. Inicialmente fiquei responsável pela receção de encomendas e armazenamento dos produtos recebidos tendo-me sido inculcida a importância da organização dos mesmos segundo a regra “first in, first out” e a necessidade de preservar a cadeia de frio dos medicamentos que necessitam de se armazenados no frigorífico²¹. Esta tarefa permitiu-me um primeiro contacto com os medicamentos e outros produtos de saúde bem como com as suas indicações terapêuticas e organização dos mesmos no espaço da farmácia, o que posteriormente facilitou o reconhecimento dos produtos aquando do atendimento ao público. Para além disto inicialmente realizei outras atividades de gestão de stock nomeadamente confirmação de prazos de validade e stocks, devolução de produtos aos fornecedores e transferência de produtos para a farmácia Nazareth, pertencente ao mesmo grupo que a FRS. Antes de iniciar o atendimento ao público e de forma a preparar-me para o mesmo, acompanhei os atendimentos realizados pelos elementos da equipa técnica o que me permitiu aprender algumas técnicas de comunicação com os utentes. Inicialmente o atendimento ao público foi realizado sob a supervisão da diretora técnica, tendo aprendido a trabalhar com o sistema informático (Sifarma 2000®) e desenvolvido competências de comunicação e aconselhamento que posteriormente me permitiram realizar o atendimento de forma autónoma. Realizei ainda a dispensa de medicamentos estupefacientes e psicotrópicos. Dadas as características destes medicamentos, aquando da dispensa, e de acordo com Portaria n.º 224/2015, de 27 de julho é necessário registar a data de dispensa, médico prescritor e os dados do doente e adquirente que incluem o nome, data de nascimento, número de bilhete de identidade ou cartão de cidadão, e, no caso de utentes estrangeiros o número do passaporte²². Para além disto, segundo as normas relativas à dispensa de medicamentos da Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde (INFARMED) é requerido o envio ao mesmo, mensalmente e até ao dia 8 do mês seguinte, da listagem do registo de saídas e as cópias das receitas manuais ou eletrónicas, processo este que é também da responsabilidade da diretora técnica e que tive oportunidade de acompanhar. É também necessário, enviar anualmente ao INFARMED o mapa do balanço, de modo a controlar o extravio deste tipo de produtos. Os documentos relativos a esta dispensa têm de ser mantidos em arquivo durante 3 anos na farmácia²³.

Utentes

A FRS tem um elevado número de utentes fidelizados que procuram os seus serviços regularmente, tanto para dispensa do seu receituário habitual como para usufruir de outros serviços farmacêuticos aí prestados, o que me permitiu criar mais facilmente uma relação de empatia e confiança com estes utentes, acompanhando a sua adesão à terapêutica bem como a evolução de alguns parâmetros bioquímicos, nomeadamente pressão arterial (PA), colesterol e glicémia. Por outro lado, dada a sua localização, a FRS é frequentemente procurada por turistas, com exigências bastante diferentes dos clientes fidelizados, sendo que este contacto me proporcionou um maior conhecimento e capacidade de aconselhamento de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), dermocosmética e suplementos alimentares.

Serviços Farmacêuticos Prestados

Para além da dispensa de medicamentos e outros produtos de saúde, a FRS proporciona aos seus utentes o acesso a outros serviços farmacêuticos, nomeadamente medição de parâmetros bioquímicos como a glicémia, colesterol, e PA e determinação do peso corporal, altura e índice de massa corporal. Os resultados obtidos nestas medições são registados num cartão que é entregue ao utente o que permite ao farmacêutico monitorizar a evolução dos mesmos promovendo junto do utente a importância da adesão à terapêutica e adoção de algumas medidas não farmacológicas. Durante o estágio tive a oportunidade de realizar diversas vezes estas medições e de fomentar junto dos utentes não só a adesão à terapêutica mas também a importância de um estilo de vida saudável, de uma dieta equilibrada e da prática de exercício físico e em alguns casos da necessidade de cessação tabágica.

Acompanhamento do processo de faturação

Durante o período de estágio foi-me dada a oportunidade de acompanhar o processo de faturação. Este é um processo da responsabilidade da diretora técnica, essencial na gestão da farmácia que consiste na conferência, correção e envio de receituário as entidades responsáveis. Considero que o acompanhamento deste processo foi para mim uma mais-valia uma vez que, para além de poder vir a ser uma tarefa da minha responsabilidade no meu futuro profissional, me permitiu perceber de que forma funcionam os regimes de participação, quais são as entidades envolvidas e qual o papel do farmacêutico em todo este processo.

Pontos Fracos

Venda de Poucos Produtos de Veterinária

Apesar dos produtos de veterinária serem pouco procurados nas farmácias considero que cada vez mais os utentes têm em consideração a necessidade de prestar os cuidados adequados aos seus animais de estimação. Durante o meu estágio tive pouco contacto com a venda destes produtos pelo que sinto que me falta algum conhecimento nesta área quer ao nível dos produtos existentes quer do aconselhamento dos mesmos.

Não Realização de Manipulados

Um medicamento manipulado define-se, segundo o decreto-lei nº95/2004, de 22 de abril, como sendo “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico”²⁴. No entanto, na FRS não são preparados medicamentos manipulados, o que vejo como um ponto fraco pois apesar deste serviço ser cada vez menos solicitado acaba por ser um serviço diferenciador da farmácia enquanto local prestador de serviços de saúde. Para além disto a hipótese de realizar este tipo de serviço teria sido uma boa oportunidade de pôr em prática os conhecimentos obtidos na unidade curricular de Farmácia Galénica.

Confidencialidade

Dada a organização do espaço de atendimento e a proximidade entre balcões tornou-se por vezes difícil evitar que terceiros ouvissem as informações transmitidas pelos utentes pondo desta forma em causa a confidencialidade e sigilo profissional, o que por vezes pode levar ao constrangimento dos utentes que acabam por não transmitir ao farmacêutico toda a informação necessária para que este preste o devido acompanhamento farmacêutico.

Oportunidades

Participação em formações

Ao longo do estágio tive oportunidade em participar em diversas formações nomeadamente, de produto de dermocosmética das marcas Vichy®, La Roche Posay® e Bioderma® e de suplementos alimentares da marca BioActivo®. Para além destas tive ainda

oportunidade de assistir a algumas formações sobre diversos MNSRM ministradas no espaço da farmácia por delegados de informação médica. Este tipo de iniciativa permitiu-me conhecer melhor um grande número de produtos bem como desenvolver algumas técnicas de *cross-selling* e uma maior e mais eficaz capacidade de aconselhamento.

Desenvolvimento de Competências de Comunicação

Durante o atendimento é essencial que o farmacêutico crie empatia com o utente transmitindo de forma clara todas as informações necessárias e demonstrando disponibilidade para esclarecer qualquer dúvida, transparecendo confiança. Desta forma, a interação com um público bastante diversificado permitiu-me melhorar as minhas capacidades de comunicação e relação com o utente, tendo sido clara a minha evolução ao longo do estágio. Tentei sempre transmitir de forma clara as informações relativas aos medicamentos cedidos e responder a todas as dúvidas que pudessem surgir, fomentando junto do utente a importância da adesão a terapêutica, cumprimento da posologia indicada e por vezes a necessidade de associação de outras medidas não farmacológicas.

Prática de diversos idiomas

Tal como referido anteriormente, a FRS é frequentemente procurada por turistas, pelo que de forma a responder às suas necessidades foi necessário comunicar noutros idiomas, principalmente em Inglês, o que me permitiu praticar e reforçar o meu domínio deste idioma.

Ameaças

Reduzidos conhecimentos de gestão farmacêutica

Ao longo deste período de estágio apercebi-me da importância da gestão farmacêutica não só no dia-a-dia da farmácia mas também nas perspetivas da mesma a curto e longo prazo. No entanto, e apesar de este ser um processo exigente e cada vez mais essencial à sobrevivência das farmácias, considero que ao longo da minha formação esta é uma área com a qual possuí menor contacto e que considero que seria importante aprofundar.

Desconfiança relativa a medicamentos genéricos

Apesar dos medicamentos genéricos serem cada vez mais comuns e constituírem uma alternativa vantajosa para os utentes que por dificuldades económicas se vêm muitas vezes impossibilitados de adquirir a medicação que lhes é prescrita, é bastante comum os utentes demonstrarem desconfiança acerca destes produtos, principalmente devido às diferenças de preço, e questionarem a diferença entre os mesmos e os medicamentos de marca. Perante estas dúvidas expliquei que, tal como descrito no Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto se tratam de “medicamentos com a mesma composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas, a mesma forma farmacêutica e cuja bioequivalência com o medicamento de referência haja sido demonstrada por estudos de biodisponibilidade apropriados”²⁵ e que a diferença de preço relativamente ao genérico se deve principalmente ao seu processo de introdução no mercado. No entanto, e apesar das explicações, muitas vezes os utentes mantêm as desconfianças anteriormente descritas e acabam por optar pelos medicamentos originais.

Medicamentos Esgotados

Durante o estágio pude contactar com a realidade de muitos medicamentos de uso crónico como é o caso dos antidiabéticos orais, insulinas, anti-hipertensores, antiagregantes plaquetários (ex. Aspirina GR®) bem como alguns psicotrópicos se encontrarem esgotados durante longos períodos de tempo, o que tornava difícil responder às necessidades dos utentes. Foi muitas vezes desafiante lidar com o descontentamento dos mesmos face a esta situação, uma vez que se tratam de medicamentos de uso crónico dos quais necessitam diariamente e que muitas vezes acabaram por suspender colocando em causa a eficácia e continuidade da terapêutica. Desta forma esta situação pôs por diversas vezes em causa a confiança dos utentes no farmacêutico enquanto profissional de saúde, comprometendo também a fidelização dos mesmos.

Casos Clínicos

Gripes e Constipações

O período do ano em que realizei este estágio caracteriza-se por ser uma época de grande procura de produtos destinados a gripes e constipações. Desta forma pude compreender que é essencial perceber quais são os sintomas associados através de algumas

perguntas chave. Geralmente, os utentes apresentam dores de cabeça e corpo, congestão nasal e até mesmo tosse. Assim sendo, pude muitas vezes aconselhar alguns antigripais mais comuns como Antigrippine[®], Cêgripe[®] ou Ilvico[®]. Nos casos de congestão nasal acabei por aconselhar alguns antigripais que apresentam na sua composição um descongestionante nasal como é o caso do Cegrinaso[®] ou em casos mais agudos um descongestionante nasal em spray como o Nasorhinathiol[®]. Relativamente ao sintoma de tosse é importante clarificar se o utente apresenta ou não expetoração, e nos casos em que tal se verifique recomendar um expetorante como o Fluimucil[®]. Deve ainda aconselhar-se a utilização de água do mar que promove uma maior limpeza das vias respiratórias bem como, em alguns casos, indicar um suplemento de vitamina C (ex. Vitacê[®]) de forma a fortalecer o sistema imunitário. É também essencial indicar algumas medidas não farmacológicas como a ingestão de água auxiliando na fluidificação e libertação das secreções.

Infeções Urinárias

No caso de utentes com infeções urinárias recorrentes é bastante comum que estes se dirijam à farmácia e solicitem o antibiótico que lhes costuma ser prescrito pelo médico, geralmente fosfomicina. Nestas situações expliquei aos utentes que não poderia dispensar o antibiótico sem receita médica uma vez que é necessário fazer um diagnóstico que indique que se trata efetivamente de uma infeção bacteriana e que por isso mesmo é necessário um tratamento com antibiótico, para o qual a prescrição médica é obrigatória. Para além disto tentei compreender quais eram os sintomas que os utentes apresentavam sendo estes vontade frequente de urinar, bem como dor e prurido. Deste modo aconselhei a toma de Lactoflora URO[®], um suplemento alimentar composto por probióticos, arandos vermelhos e vitamina C uma vez que este apresenta resultados eficazes na prevenção de infeções urinárias já que as proantocianidinas presentes no arando vermelho ajudam a diminuir a motilidade e adesão bacteriana e a vitamina C acidifica o meio criando um ambiente desfavorável para o desenvolvimento das bactérias que provocam infeção. Fomentei também juntos destes utentes a importância de outras medidas não farmacológicas como não conter a necessidade urinar, consumir água nas quantidades recomendadas e ainda a importância de proceder à lavagem íntima com produtos adequados, como por exemplo Lactacyd[®] ou Saforelle[®]. Indiquei ainda que no caso de persistência ou agravamento dos sintomas deveriam consultar o médico.

Conclusão

O estágio curricular em farmácia comunitária foi para mim bastante enriquecedor tanto a nível da minha formação como a nível pessoal uma vez que se tornou uma oportunidade não só de pôr em prática os conhecimentos adquiridos ao longo destes cinco anos como também de adquirir novos conhecimentos e competências e de me consciencializar com a realidade da profissão.

O atendimento ao público foi para mim a tarefa mais desafiante mas também mais gratificante deste estágio uma vez que me levou a compreender o papel de elevada importância que o farmacêutico assume enquanto “agente de saúde pública” dado que na maior parte das vezes acaba por ser o último contacto e também o mais próximo entre os utentes e a terapêutica instituída pelo médico. É da sua responsabilidade a sensibilização do utente para a importância do cumprimento da terapêutica de acordo com a posologia indicada, pelo que cada vez mais devem primar o seu trabalho pelo rigor e profissionalismo.

Realço ainda a integração e apoio prestados por toda a equipa da FRS que levou à minha contínua evolução ao longo do estágio e à aquisição não só de conhecimentos teóricos como também de várias competências pessoais essenciais ao exercício da profissão, nomeadamente ao nível da autonomia, espírito crítico e autoconfiança.

Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Parte 3

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Bluepharma, Indústria Farmacêutica, S.A.

Ana Margarida Teixeira Farinha

Relatório no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas orientado pelo Dr. Marcos Monteiro e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Setembro de 2019



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Abreviaturas

AG - Apoio ao Galénico

APIs - Ingredientes Ativos Farmacêuticos

CQ - Controlo de Qualidade

DA - Desenvolvimento Analítico

DAG - Desenvolvimento Analítico e Galénico

DG - Desenvolvimento Galénico

FDA - *Food and Drug Administration*

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do Inglês, *High Performance Liquid Chromatography*)

I&D - Investigação e Desenvolvimento

INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde

IF - Indústria Farmacêutica

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SOPs - Procedimentos Operativos Normalizados (do Inglês, *Standard Operating Procedures*)

SWOT - Pontos fortes, Pontos fracos, Oportunidades e Ameaças (do Inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*)

VL - Verificação de Limpeza

Introdução

O estágio curricular, ao constituir um primeiro contacto com a prática profissional, assume um papel fulcral na conclusão do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) permitindo não só a aplicação e consolidação de conhecimentos teóricos e práticos adquiridos ao longo destes anos de formação mas também a aquisição de novas competências.

Neste sentido, e de forma a enriquecer a minha formação, para além do estágio em farmácia comunitária optei pela realização de um estágio em Indústria Farmacêutica (IF) que decorreu entre os dias 13 de maio e 31 de julho de 2019, na empresa Bluepharma, Indústria Farmacêutica, S.A., com sede em São Martinho do Bispo, Coimbra e sob orientação do Dr. Marcos Monteiro. A Bluepharma, iniciou a sua atividade em fevereiro de 2001, após a aquisição da unidade industrial à multinacional Bayer²⁶, sendo que a sua atividade acompanha toda a cadeia do medicamento desde a Investigação e Desenvolvimento (I&D) à comercialização²⁷ tendo por isso como missão “a investigação e desenvolvimento de medicamentos de elevado valor acrescentado e a contínua aposta na qualidade e inovação dos seus processos de fabrico e comercialização”²⁸. Este estágio realizou-se no Apoio ao Galénico (AG), que tem como principal função analisar as formulações desenvolvidas pelo Desenvolvimento Galénico (DG) recorrendo aos métodos desenvolvidos pelo Desenvolvimento Analítico (DA), funcionando por isso como um elo de ligação entre esses dois departamentos.

O presente relatório analisa de forma crítica este estágio, tendo em conta as atividades desenvolvidas e conhecimentos adquiridos. Para tal, apresenta uma estrutura de Análise SWOT que inclui a análise interna onde são expostos os pontos fortes (S, Strengths) e pontos fracos (W, Weaknesses) e a análise externa que incide sobre as oportunidades (O, Opportunities) e as ameaças (T, Threats).

Análise Swot

Pontos Fortes

Aquisição de conhecimentos sobre o funcionamento da IF

Aquando da entrada na Bluepharma é definido para cada novo colaborador um plano de integração com o objetivo de dar a conhecer a organização e funcionamento da empresa. Assim sendo, no primeiro dia de estágio realizei uma visita aos diversos departamentos da Bluepharma, dando um maior relevo às instalações do edifício de Investigação, Desenvolvimento e Inovação (ID&I), onde se integra o AG, e foi-me feita uma apresentação que me permitiu perceber de que forma está organizada a empresa e quais as principais funções de cada departamento. Para além disto, ao longo dos primeiros dias, dediquei-me à leitura de procedimentos operativos normalizados (SOPs) acerca da organização da empresa e das instalações, sistema de documentação bem como segurança no laboratório, o que foi essencial ao meu enquadramento.

Neste âmbito, tive também oportunidade de realizar uma formação designada “Evolução da Bluepharma”, que me contextualizou relativamente à história da Bluepharma, à sua organização atual e à forma como os departamentos estão interligados, dando-me uma visão global daquilo que é atualmente feito e de alguns objetivos futuros.

Acompanhamento do processo de trabalho

O trabalho no grupo do AG compreende várias etapas desde a receção do pedido de análise, passando pela análise e respetivos cálculos até à revisão. São realizados vários tipos de análise como de conteúdo, impurezas, dissolução, homogeneidade de mistura entre outras. Ao longo do estágio foi-me dada a possibilidade de acompanhar os analistas no decorrer do seu trabalho, o que foi para mim uma mais-valia, já que para além de me ter dado a conhecer a organização do trabalho e as técnicas laboratoriais envolvidas, como o trabalho em HPLC, me permitiu perceber o enquadramento do AG e de que forma este se relaciona com os restantes departamentos, principalmente DG, DA e I&D.

Conhecimentos relativamente a melhoria contínua

A Bluepharma prima pela sua aposta na melhoria contínua, com o objetivo de dar uma resposta mais eficiente, garantido assim a satisfação dos seus clientes. Deste modo, a ideologia Kaizen, que surgiu no Japão em 1986 e significa mudar (“kai”) para melhor (“zen”),²⁹ tem vindo a crescer dentro da empresa, estando neste momento aplicada a toda a sua estrutura.

É neste contexto que surge o meu projeto de estágio que consiste na elaboração de um trabalho sobre “Aumento da Eficiência na Verificação de Limpeza” que consiste na avaliação do processo de verificação de limpeza, determinação das suas ineficiências e elaboração de propostas de melhoria de modo a minimizar ou eliminar essas mesmas ineficiências. Para tal realizei o mapeamento deste processo, bem como a determinação do tempo dispensado com cada uma das tarefas, seguindo-se a análise desses mesmos tempos e determinação das ineficiências e possíveis melhorias.

A elaboração deste trabalho foi para mim bastante enriquecedor pois para além de ter sido um primeiro contacto com a ideologia e projeto Kaizen, permitiu-me também desenvolver competências no âmbito da análise e resolução de problemas e ainda compreender a importância da melhoria contínua no dia-a-dia da IF.

Autonomia

No início do estágio foram-me dadas a conhecer quais as tarefas que iria realizar, de que forma as deveria executar, nomeadamente como poderia encontrar a informação que iria necessitar, bem como o seu enquadramento e importância. Após esta contextualização iniciei a pesquisa sobre melhoria contínua e prossegui com a análise dos dados sobre verificação de limpeza (VL). A realização destas atividades foi feita de forma autónoma e proativa, tendo em conta que todos os elementos do AG se mostraram sempre disponíveis para responder às dúvidas que me foram surgindo. Apesar de inicialmente esta ter parecido uma tarefa difícil, a confiança que me foi depositada fomentou largamente a minha autonomia e capacidade de resolução de problemas.

Pontos Fracos

Duração do estágio

Considero que a duração do estágio inviabilizou a possibilidade de acompanhar com maior proximidade o processo de VL e de elaborar uma análise mais completa e aprofundada dos dados que me foram facultados, no entanto, este período permitiu compreender de forma geral o processo de VL e determinar quais as principais ineficiências do mesmo. Para além disto um período de estágio mais alargado poderia permitir que este se tornasse mais prático e dar também a oportunidade experienciar outros setores obtendo assim uma visão mais abrangente do papel dos diversos departamentos.

Componente laboratorial

Uma vez que a duração do estágio condiciona a formação e desenvolvimento de práticas a nível laboratorial e que o projeto de estágio que realizei exigiu um maior dispêndio de tempo na análise de dados, considero que o estágio acabou por se tornar bastante teórico e pouco prático a nível laboratorial.

Oportunidades

Participação em formações internas

A Bluepharma apresenta uma notória aposta na formação inicial e contínua dos seus colaboradores, dando também aos estagiários a possibilidade de cumprir o mesmo plano de formação. Neste âmbito participei em diversas formações integradas no plano inicial de formação, subordinadas aos temas: evolução da Bluepharma; sistema de gestão integrado: investigação; desenvolvimento e inovação; farmacovigilância; assuntos regulamentares; melhoria contínua e sistemas de informação. Tive também oportunidade de participar em formações mais específicas do DAG, nomeadamente sobre ficha de dados de segurança de alguns produtos potentes manuseados nos laboratórios de I&D e ainda sobre manipulação de produtos potentes em sistemas de contenção.

Conhecimentos em Excel

O projeto desenvolvido ao longo deste estágio exigiu o tratamento de dados, nomeadamente o cálculo do número de VL, amostras colhidas e média de tempo despendido num dado procedimento, através da utilização do Microsoft Excel®. Assim sendo, e dado que inicialmente não tinha muitos conhecimentos deste software, foi possível ao longo destes meses ficar a conhecer as suas funcionalidades o que considero bastante proveitoso para a minha formação pessoal já que esta é uma ferramenta bastante útil para diversas tarefas e que muito provavelmente irei utilizar no meu futuro profissional.

Conhecimento do funcionamento do DAG

A minha integração no AG, acompanhamento do trabalho, bem como a presença nas reuniões diárias onde é discutido o plano de trabalho e a sua evolução ao longo da semana,

permitiu compreender melhor qual o papel do DAG na IF, e mais concretamente dentro da Bluepharma. O DAG é constituído pelo DA, DG e AG, que funciona como ligação entre os dois anteriores. Ao DG concernem as funções de desenvolvimento de novas formulações enquanto que o DA tem como funções o desenvolvimento e validação de métodos analíticos. O AG tem a responsabilidade de analisar as formulações desenvolvidas pelo DG recorrendo aos métodos validados pelo DA, de entre estas análises destacam-se o conteúdo, impurezas e dissolução.

Inspeções

Por ser uma empresa que opera não só no mercado nacional como em mais de 40 países a nível internacional²⁷ encontra-se certificada pelo INFARMED e, desde 2009, pela FDA. Desta forma, e para garantir o cumprimento das normas de qualidade, a Bluepharma é frequentemente auditada por estas duas entidades. No decorrer do estágio, ocorreram auditorias por parte de ambas as entidades dando-me a oportunidade de compreender de que forma se desenrola este processo, as diferenças no que toca às exigências e método de trabalho de ambas e ainda de que forma é executada a resposta às observações feitas pelos auditores.

Ameaças

Dificuldade no acompanhamento do processo de verificação de limpeza

O processo de verificação de limpeza consiste na verificação da presença de ingredientes ativos farmacêuticos (APIs) nos equipamentos utilizados pelo DG e produção, garantindo que estes se encontram dentro de limites definidos como seguros para que possam ser utilizados para o fabrico de outros produtos com diferentes APIs, sem risco de contaminação. Na Bluepharma esta análise pode ser feita tanto pelo AG como pelo controlo de qualidade (CQ), no entanto, ao longo da elaboração do meu trabalho não foi possível acompanhar todo o processo de VL, quer devido à reduzida periodicidade com que é realizado pelo AG, quer devido à impossibilidade de acesso à zona de Scale-UP e produção devido às medidas de higiene e segurança. Esta impossibilidade acabou por dificultar a análise crítica dos dados sobre VL que me foram disponibilizados.

Conclusão

O farmacêutico, enquanto especialista do medicamento, tem um papel essencial em todos os pontos da cadeia do medicamento, desde a investigação até à sua comercialização. O estágio na Bluepharma deu-me a oportunidade de ter um primeiro contacto com esta área profissional bem como conhecer a organização e funcionamento da IF e ainda o papel e interacção entre os diferentes departamentos.

O projeto de estágio tornou-se uma mais-valia para a minha formação, já que constituiu um primeiro contacto com conceitos como a melhoria contínua, a sua importância e implementação, tendo fomentado também o espírito crítico e autonomia. O facto do estágio ter sido realizado no AG, que se dedica principalmente à análise laboratorial de formulações desenvolvidas pelo DG, possibilitou a consolidação de diversos conhecimentos teóricos e práticos adquiridos no MICF, nomeadamente, ao nível das regras de segurança no laboratório e de técnicas laboratoriais como o HPLC.

Assim sendo, este estágio constituiu uma oportunidade bastante enriquecedora no que toca à minha formação quer em contexto de futuro profissional quer a nível pessoal, tendo promovido largamente a minha autonomia e capacidade de resolução de problemas.

Referências Bibliográficas

1. GITLE, Aaron; DHILLON, Paraminder; SHORTER, James - **Neurodegenerative disease: models, mechanisms, and a new hope** [Em linha], atual. 2017. [Consult. 3 jul. 2019]. Disponível em WWW:<URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5451177/#DMM030205C24>.
2. HEEMELS, M.T. - **Neurodegenerative diseases** [Em linha], atual. 2016. [Consult. 3 jul. 2019]. Disponível em WWW:<URL:https://www.nature.com/articles/539179a>.
3. ASSOCIAÇÃO ALZHEIMER PORTUGAL - **Prevalência da Demência** [Em linha], atual. 2019. [Consult. 3 jul. 2019]. Disponível em WWW:<URL:http://alzheimerportugal.org/pt/text-0-9-106-349-prevalencia-da-demencia>.
4. BARRAGÁN, M.D., GARCIA, S.M., PARRA, S.A., TEJEIRO, M. J.- **Alzheimer's disease**. *Medicine (Spain)*. 2019;12: 671–673. DOI: 10.1016/j.med.2019.03.012.
5. BANSAL, R, SINGH, R. - **Exploring the potential of natural and synthetic neuroprotective steroids against neurodegenerative disorders: A literature review**. *Med Res Rev*. 2018;38(4):1-5,24.DOI: 10.1002/med.21458
6. SCHOTT, C. A., LANE J., HARDY, J. M. - **Alzheimer's disease** [Em linha], atual. 2017. [Consult. 3 jul. 2019]. Disponível em WWW:<URL:https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ene.13439>.
7. Serafini, M., Catanzaro, M., Rosini, M., Racchi, M., Lanni, C. - **Curcumin in Alzheimer's disease: Can we think to new strategies and perspectives for this molecule?**, *Pharmacological Research*. 2017;124:3. DOI: 10.1016/j.phrs.2017.08.004
8. DUARTE A.C., HRYNCHAK, M.V., GONÇALVES I., QUINTELA T, SANTOS A.- **Sex Hormone Decline and Amyloid β Synthesis, Transport and Clearance in the Brain**. *Journal of Neuroendocrinology*. 2016;28(11):2–27.DOI: 10.1111/jne.12432
9. LAN, Y.L., ZHAO, J., LI, S. - **Update on the neuroprotective effect of estrogen receptor alpha against Alzheimer's disease**. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2014; 43(4):1137–1148.DOI: 10.3233/JAD-141875

10. CRAIG, M.C., MAKI, P.M., MURPHY, D.G.M.- **The Women's Health Initiative Memory Study: findings and implications for treatment.** *Lancet Neurol.* 2005;4:1–3.
11. XU, H., WANG, R., ZHANG, Y., ZHANG, X. - **Estrogen, β -Amyloid Metabolism/Trafficking, and Alzheimer's Disease.** *New York Academy of Sciences.* 2006; 342:1–3, 6–11. DOI: 10.1196/annals.1386.036
12. MERLO, S., SPAMPINATO, S.F., SORTINO, MA. **Estrogen and Alzheimer's disease: Still an attractive topic despite disappointment from early clinical results.** *European Journal of Pharmacology.* 2017;817:4–7. DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.05.059
13. ZHANG, Z., SIMPKINS, J.W. - **Okadaic acid induces tau phosphorylation in SH-SY5Y cells in an estrogen-preventable manner.** *Brain Research.* 2010;23(1):1–4, 9–12. DOI: 10.1016/j.brainres.2010.04.074.
14. HONG, Y., WANG, X., SUN, S., XUE, G., LI, J., HOU, Y. - **Progesterone exerts neuroprotective effects against $A\beta$ -induced neuroinflammation by attenuating ER stress in astrocytes.** *International Immunopharmacology.* 2016;33:1–7. DOI: 10.1016/j.intimp.2016.02.002
15. HONG, Y., LIU, Y., ZHANG, G., WU, H., HOU, Y. - **Progesterone suppresses $A\beta_{42}$ -induced neuroinflammation by enhancing autophagy in astrocytes.** *International Immunopharmacology.* 2018;54(12):1–8. DOI: 10.1016/j.intimp.2017.11.044
16. FINDEIS, M.A.- **United States Patent: Synthesis of Compounds Useful as modulators of amyloid-beta production.** US Patents. 2012; 2: 1-2,4-18.
17. BOUTIN, S., ROY, J., MALTAIS, R., ALATA, W., CALON, F., POIRIER, D. - **Identification of steroidal derivatives inhibiting the transformations of allopregnanolone and estradiol by 17β -hydroxysteroid dehydrogenase type 10.** *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.* 2018;28(22):3554–3559. DOI: 10.1016/j.bmcl.2018.09.031
18. CRESPO-CASTRILLO, A., YANGUAS-CASÁS, N., AREVALO, M.A., AZCOITIA, I., BARRETO, G.E., GARCIA-SEGURA, L.M. - **The Synthetic Steroid Tibolone Decreases Reactive Gliosis and Neuronal Death in the Cerebral Cortex of Female Mice After a Stab Wound Injury.** *Molecular Neurobiology.*

2018;55(11):8651–8652, 8661–8664.DOI: 10.1007/s12035-018-1008-x

19. ROCCA, W.A., GROSSARDT, B.R., SHUSTER, L.T. - **Oophorectomy, menopause, estrogen treatment, and cognitive aging: Clinical evidence for a window of opportunity.** Brain Research. 2011;1379:9.DOI: 10.1016/j.brainres.2010.10.031.
20. ORDEM DO FARMACÊUTICOS - **Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos** [Em linha] [Consult. 29 jun. 2019]. Disponível em WWW:<URL:https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/codigo_deontologico_da_of_4436676175988472c14020.pdf>.
21. Portaria número 181/2015 de 19 de junho de 2015 do Ministério da Saúde. Diário da República: Série I, N° 181 (2015). [consult. 21 de maio de 2019]. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/67540643>
22. Portaria número 224/2015 de 27 de julho do Ministério da Saúde. Diário da República: Série I, n°224 (2015). [consult. 22 de maio de 2019]. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/69879391>
23. Portaria n° 284-A/2016 de 4 de novembro do Ministério da Saúde . Diário da República: 1° Suplemento, Série I, n° 212 (2016). [consult 22 de maio de 2019]. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/75660778>
24. Decreto-Lei n° 95/2004 de 22 de abril do Ministério da Saúde. Diário da República: Série I-A, n° 95 (2004). [Consult. 22 de maio de 2019]. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/223251>
25. Decreto-Lei n° 176/2006 de 30 de agosto do Ministério da Saúde. Diário da República: Série I, n° 167 (2006). [Consult. 24 maio de 2019]. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/540387>
26. BLUEPHARMA - **Bluepharma- Quem somos** [Em linha] [Consult. 24 jul. 2019]. Disponível em WWW:<URL:<https://www.bluepharma.pt/about-us.php>>.
27. BLUEPHARMA - **Grupo Bluepharma** [Em linha] [Consult. 24 jul. 2019]. Disponível em WWW:<URL:<https://www.bluepharma.pt/about-bluepharmagroup.php>>.
28. BLUEPHARMA - **Bluepharma- Missão, Visão e Valores** [Em linha] [Consult. 24 jul. 2019]. Disponível em WWW:<URL:<https://www.bluepharma.pt/about-mvv.php>>.
29. KAIZEN, Institute - **O que é Kaizen** [Em linha] [Consult. 24 jul. 2019]. Disponível em WWW:<URL:<https://pt.kaizen.com/quem-somos/significado-de-kaizen.html>>

