



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Inês Rafaela Gonçalves Valada

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Aterosclerose: a hipercolesterolemia e a importância dos microRNAs” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, do Professor Doutor José Barata Custódio, da Dra. Maria do Rosário Pereira de Carvalho e Dra. Ana Filipa Lemos da 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

Inês Rafaela Gonçalves Valada

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Aterosclerose: a hipercolesterolemia e a importância dos microRNAs” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, do Professor Doutor José Barata Custódio, da Dra. Maria do Rosário Pereira de Carvalho e da Dra. Ana Filipa Lemos apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019

Eu, Inês Rafaela Gonçalves Valada, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2014201140, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Aterosclerose: a hipercolesterolemia e a importância dos microRNAs” 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, 2 de setembro de 2019.

Inês Rafaela Gonçalves Valada

(Inês Rafaela Gonçalves Valada)

## PREÂMBULO

Segundo o artigo 44.º, n.º 2 da Diretiva 2013/55/UE, do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de novembro de 2013, o título de formação de farmacêutico sanciona uma formação que inclui, pelo menos, quatro anos de formação teórica e prática a tempo inteiro ministrada numa universidade e, no decurso ou fim, seis meses de estágio em farmácia aberta ao público ou serviço farmacêutico hospitalar. Ora, perante o disposto nesta Diretiva, encontra-se estipulado no Despacho n.º 11765/2018, Diário da República, 2.ª série, n.º 236 de 7 de dezembro de 2018, o Plano de Estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, que inclui a unidade curricular “Estágio” a realizar no 5.º ano de formação académica. Esta unidade curricular pressupõe a elaboração de um documento único que inclui os Relatórios de Estágio e Monografia, cujo tema deverá ser enquadrado no âmbito do preceituado no Ato Farmacêutico (Artigo 75.º do Decreto-Lei n.º 131/2015, de 4 de setembro de 2015 – Estatuto da Ordem dos Farmacêuticos).

De acordo com o supracitado, apresento à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, um documento único dividido em três capítulos. O primeiro capítulo respeitante à Monografia, intitulada “Aterosclerose: a hipercolesterolemia e a importância dos microRNAs” onde é dado ênfase à hipercolesterolemia como um dos principais fatores de risco no desenvolvimento da aterosclerose, fazendo uma pequena abordagem ao metabolismo das lipoproteínas e às terapêuticas disponíveis, sendo igualmente referida a importância dos microRNAs como reguladores-chave na homeostase do colesterol e no processo aterosclerótico. Um segundo capítulo, onde é apresentado o Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária sob a forma de análise SWOT, onde é destacado o papel do farmacêutico comunitário na promoção do bem-estar e saúde do doente, promovendo o uso racional do medicamento e proporcionando um tratamento com qualidade, eficácia e segurança. E um terceiro e último capítulo, que concerne ao Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica que, apesar de não se encontrar disposto no artigo 44.º, n.º 2 da Diretiva 2013/55/UE, do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de novembro de 2013, a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra proporciona aos seus estudantes a sua realização, já que esta é também uma área de domínio e ato farmacêutico.

Termino com uma referência ao artigo n.º 83.º, do Decreto-Lei n.º 288/2001, Diário da República, série I-A, n.º 261, de 10 de novembro de 2001, “*o farmacêutico deve manter atualizadas as suas capacidades técnicas e científicas para melhorar e aperfeiçoar constantemente a sua atividade, por forma que possa desempenhar conscientemente as suas obrigações profissionais perante a sociedade*”

## ÍNDICE

<b>CAPÍTULO I – Aterosclerose: a hipercolesterolemia a importância dos microRNAs ....</b>	<b>6</b>
ABREVIATURAS.....	7
RESUMO.....	9
ABSTRACT .....	10
INTRODUÇÃO.....	11
A HIPERCOLESTEROLÉMIA E A ATROSCLEROSE.....	12
Metabolismo dos lípidos e lipoproteínas.....	12
Hipercolesterolemia e terapia farmacológica.....	16
Fisiopatologia da aterosclerose.....	21
PAPEL DOS miRNAS NA HOMEOSTASE DO COLESTEROL.....	25
Processo de formação e modo de ação dos miRNAs .....	27
miRNAs e o metabolismo das HDL .....	28
miRNAs e o metabolismo das LDL .....	31
miRNAs no processo aterosclerótico .....	34
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	38
ANEXOS .....	41
<b>CAPÍTULO II – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária .....</b>	<b>46</b>
ABREVIATURAS.....	47
RESUMO.....	48
ABSTRACT .....	48
INTRODUÇÃO.....	49
FARMÁCIA SANTA CRISTINA .....	49
ANÁLISE SWOT .....	50
Pontos Fortes.....	50
Pontos Fracos .....	53
Oportunidades.....	54
Ameaças .....	55
CASOS PRÁTICOS.....	57
Caso 1 .....	57
Caso 2.....	58
Caso 3.....	58
RASTREIO CARDIOVASCULAR.....	59
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	62
ANEXOS .....	63
<b>CAPÍTULO III – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica .....</b>	<b>71</b>
ABREVIATURAS.....	72

RESUMO.....	73
ABSTRACT .....	73
INTRODUÇÃO.....	74
BLUEPHARMA.....	74
ANÁLISE SWOT .....	75
Pontos Fortes.....	75
Pontos Fracos .....	77
Oportunidades.....	77
Ameaças .....	79
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	80
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
ANEXOS .....	82

# **CAPÍTULO I**

## **Monografia “Aterosclerose: a hipercolesterolemia e a importância dos microRNAs”**

Orientada pelo Professor Doutor José Barata Custódio

## **ABREVIATURAS**

**Ago 2** – Proteína Argonauta 2

**Apo** – Apolipoproteína

**ABCA1** – Cassete com capacidade de ligação ao ATP subfamília A, membro I

**ABCG1** – Cassete com capacidade de ligação ao ATP subfamília G, membro I

**ABCB11** – Cassete com capacidade de ligação ao ATP subfamília B, membro II

**AMPK** – Proteína quinase ativada por AMP

**APC** – Células apresentadoras de antígeno

**ATP** – Adenosina trifosfato

**ATP8B1** – *Aminophospholipid transporter, class I, type 8B, member 1*

**AVC** – Acidente Vascular Cerebral

**bFGF** – Fator de crescimento básico de fibroblastos

**Células T<sub>H</sub>** – Células T *helper*

**Células Treg** – Células T reguladoras

**c-HDL** – Colesterol das HDL

**c-LDL** – Colesterol das LDL

**CD36** – *Cluster of differentiation 36*

**CETP** – Proteína de transferência de ésteres de colesterol

**CML** – Células do músculo liso

**CYP7A1** – Colesterol 7 $\alpha$ -hidroxilase

**DCV** – Doença Cardiovascular

**DGCR8** – *DiGeorge syndrome chromosomal region 8*

**ET-1** – Endotelina I

**HDL** – Lipoproteínas de alta densidade

**HMG-CoA** – 3-hidroxi-3-metilglutaril-Coenzima A

**ICAM-1** – Moléculas de adesão intracelular-1

**IDL** – Lipoproteínas de densidade intermédia

**IFN $\gamma$**  – Interferão- $\gamma$

**IL** – Interleucina

**INSIG1** – Gene I induzido pela insulina

**LDL** – Lipoproteínas de baixa densidade

**LDLR** – Recetor de LDL

**LDLRAP1** – Proteína I do adaptador de LDLR

**LCAT** – Lecitina colesterol aciltransferase

**LOX-1** – *Lectin-like oxLDL receptor-1*

**LPGATI** – Lisofosfatidil glicerol aciltransferase I

**LPL** – Lipoproteína lipase

**M-CSF** – *Macrophage colony stimulating factors*

**MCP-I** – *Monocyte chemoattractant protein-I*

**MHC** – Complexo principal de histocompatibilidade

**miRNA/miR** – microRNA

**MMPs** – Metaloproteinases de matriz

**mRNA** – RNA mensageiro

**MTTP** – Proteína microsomal de transferência de triacilgliceróis

**NADPH** – Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

**NCEH** – Hidrolase do colesterol esterificado neutro

**NO** – Óxido nítrico

**oxLDL** – LDL oxidadas

**PCSK9** – Pró-proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9

**PDGF** – Fator de crescimento derivado de plaquetas

**PDK4** – *Pyruvate dehydrogenase kinase isozyme 4*

**PGCI- $\alpha$**  – *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha*

**Pre-miRNA** – Precursor de miRNA

**Pri-miRNA** – miRNA primário

**RCT** – Transporte reverso de colesterol

**RISC** – Complexo de silenciamento de genes induzido por RNA

**RNA** – Ácido ribonucleico

**ROS** – Espécies reativas de oxigênio

**SR** – Recetor *scavenger*

**SR-A** – Recetor *scavenger* classe A

**SR-BI** – Recetor *scavenger* B I

**SREBP** – *Sterol regulatory element-binding proteins*

**UTR** – Região não traduzida

**VCAM-I** – Molécula de adesão vascular

**VLDL** – Lipoproteínas de muito baixa densidade

## RESUMO

A aterosclerose constitui uma das principais causas de doença cardiovascular (DCV), doença que é considerada a principal causa de morte em todo o mundo. Trata-se de uma condição inflamatória crônica, que resulta da interação entre lipoproteínas modificadas, macrófagos e outros elementos celulares, com deposição na parede da artéria, que poderá culminar num evento clínico agudo por ruptura da placa aterosclerótica e trombose. Os fatores de risco associados são diversos, desde origem ambiental, alimentar e genética, apresentando-se a hipercolesterolemia como um dos mais importantes.

Diferentes estudos têm demonstrado que os microRNAs (miRNAs) poderão desempenhar um papel importante na regulação dos processos celulares e moleculares associados ao desenvolvimento da aterosclerose, nomeadamente fatores de risco, início e progressão da placa, bem como a sua ruptura. O facto dos miRNAs serem conservados entre espécies, sugere um potencial uso como biomarcadores da doença e na terapêutica.

Neste trabalho dar-se-á ênfase à hipercolesterolemia como um dos principais fatores de risco no desenvolvimento da aterosclerose, fazendo-se uma pequena abordagem ao metabolismo das lipoproteínas e às terapêuticas disponíveis. Será igualmente referida a importância dos miRNAs como reguladores-chave da homeostase do colesterol, assumindo também uma ligação com os mecanismos subjacentes ao desenvolvimento da doença aterosclerótica.

**Palavras-chave:** Aterosclerose, Colesterol, Estatinas, HDL, Hipercolesterolemia, LDL, miRNAs.

## **ABSTRACT**

Atherosclerosis is the major cause of cardiovascular disease (DCV), a disease that is considered the leading cause of death worldwide. Atherosclerosis is a chronic inflammatory condition resulting from the interaction between modified lipoproteins, macrophages and other cellular elements with deposition in the artery wall, which may culminate in an acute clinical event of atherosclerotic plaque rupture and thrombosis. The associated risk factors are diverse, from environmental, food and genetic origin, with hypercholesterolemia being one of the most important.

Different studies have shown that microRNAs (miRNAs) may play an important role in the regulation of cellular and molecular processes associated with the development of atherosclerosis, namely risk factors, plaque onset and progression, and its rupture. The fact that miRNAs are conserved between species suggests a potential use as biomarkers of disease and therapy.

In this work, hypercholesterolemia will be highlighted as one of the main risk factors in the development of atherosclerosis, taking a small approach to lipoprotein metabolism and available therapies. The importance of miRNAs as key regulators of cholesterol homeostasis will also be mentioned, also assuming a link with the mechanisms underlying the development of atherosclerotic disease.

**Keywords:** Atherosclerosis, Cholesterol, Statins, HDL, Hypercholesterolemia, LDL, miRNAs.

## INTRODUÇÃO

O colesterol é um componente essencial ao corpo humano, apresentando um importante papel nas membranas celulares, proporcionando fluidez e mobilidade, bem como na regulação funcional e metabólica, servindo como substrato à síntese de muitos compostos como ácidos biliares, hormonas esteroides e vitamina D (Wang *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). Os níveis de colesterol celular e plasmático são mantidos por meio de mecanismos rigidamente controlados. Uma alteração na homeostase do colesterol poderá resultar no aparecimento de doenças como a diabetes *mellitus* tipo II e aterosclerose (Goedeke *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018).

A aterosclerose é uma doença progressiva e multifatorial que se caracteriza pela presença de lípidos, fenómenos inflamatórios, morte celular e fibrose na parede da artéria, sendo uma das principais causas da elevada morbidade e mortalidade cardiovascular nos países industrializados (Wang *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2017). Existem inúmeros fatores que podem contribuir para o seu aparecimento, no entanto, a presença de elevados níveis de colesterol das LDL (c-LDL) é um grande fator de risco na promoção deste evento, sendo a sua progressão acelerada pela associação ao tabagismo, diabetes *mellitus* e hipertensão arterial (Goedeke *et al.*, 2016; Melendez *et al.*, 2017). Existe uma clara correlação entre os níveis de colesterol plasmático e a incidência de doença cardiovascular (DCV), demonstrado em vários ensaios clínicos e estudos em animais, pelo que é fundamental o controlo da hipercolesterolemia (Yu *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). A principal estratégia passa pelo controlo dos níveis plasmáticos de lipoproteínas. Se por um lado, os níveis elevados de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) parecem estar implicados na promoção do desenvolvimento de placas ateroscleróticas, as lipoproteínas de alta densidade (HDL), envolvidas na via do transporte reverso do colesterol (RCT), parecem representar um importante mecanismo anti-aterogénico uma vez que desempenham um papel fundamental na remoção do excesso de colesterol dos tecidos periféricos (Wang *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2018). As estatinas, que são potentes inibidores da 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-coA) redutase, com capacidade para inibir a síntese endógena do colesterol, são a primeira linha terapêutica para reduzir os níveis de c-LDL e o risco de eventos cardiovasculares (Wang *et al.*, 2017; Zambrano *et al.*, 2018).

Nos últimos anos, tem sido identificado um papel importante dos microRNAs (miRNAs) na regulação do metabolismo lipídico e de distúrbios associados à síndrome metabólica, obesidade, resistência à insulina e aterosclerose (Aryal *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018). Desde a sua descoberta em *Caenorhaditis elegans*, tem se verificado um envolvimento em várias vias biológicas, regulando processos como a divisão celular e a apoptose, metabolismo, sinalização

celular, resposta imune e movimento celular (Aryal *et al.*, 2017; Zambrano *et al.*, 2018). Os miRNAs são sequências de nucleótidos de pequeno tamanho, não codificantes e altamente conservadas, que regulam a expressão gênica a um nível pós-transcricional (Zambrano *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). Têm sido investigadas novas abordagens terapêuticas através do silenciamento de genes por meio de miRNAs, ou mimetização destes, tanto para uso isolado como em combinação com estatinas (Feinberg and Moore, 2016; Goedeke *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018). Outros estudos têm também evidenciado a influência das estatinas nos níveis circulantes destas pequenas moléculas de ácido ribonucleico (RNA) não codificante (Mohajeri *et al.*, 2018; Zambrano *et al.*, 2018).

## **A HIPERCOLESTEROLÉMIA E A ATEROSCLEROSE**

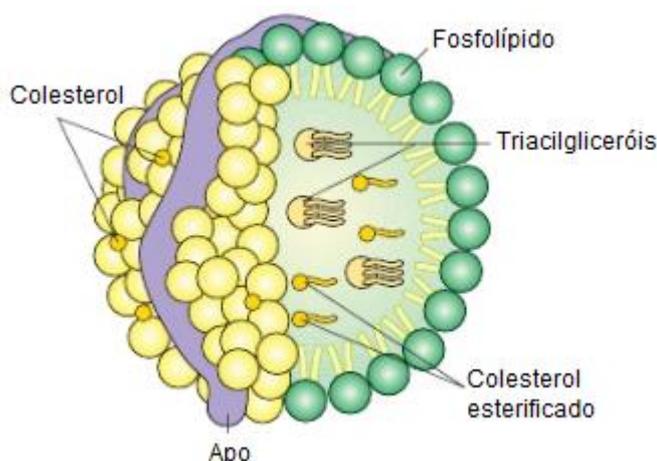
A aterosclerose, uma doença das artérias de grande e médio calibre, é a principal causa de doença cardíaca e acidente vascular cerebral (AVC) influenciada por uma grande variedade de fatores, entre os quais a dislipidemia, que é considerada um dos principais fatores de risco (Wu *et al.*, 2017). Tanto o colesterol proveniente da dieta, como o sintetizado a nível fisiológico, maioritariamente nos hepatócitos, irá incorporar lipoproteínas que permitem a sua distribuição pela maioria dos tecidos. As LDL são o seu principal veículo de transporte e também as lipoproteínas com maior potencial de induzir a formação de ateroma. Estas, quando em níveis plasmáticos aumentados, promovem o acúmulo de colesterol e resposta inflamatória na parede da artéria impulsionando o processo aterosclerótico (Bertrand and Tardif, 2016; Defesche *et al.*, 2017; Zárate *et al.*, 2016).

Considerando que as concentrações plasmáticas aumentadas de LDL têm um grande impacto no desenvolvimento da aterosclerose e também o importante papel que as HDL desempenham na sua reversão, uma vez que asseguram o RCT e reduzem a inflamação, apresentar-se-á, de seguida, uma pequena revisão do metabolismo lipídico, com especial referência ao metabolismo das lipoproteínas (Wang *et al.*, 2017).

### **Metabolismo dos lípidos e lipoproteínas**

O colesterol, os triacilgliceróis e as lipoproteínas estão envolvidos na patogénese da aterosclerose (Wu *et al.*, 2017). Os lípidos, pelas suas características hidrofóbicas, são transportados no ambiente aquoso do sangue sob a forma de lipoproteínas, estruturas esféricas complexas de teor lipídico e proteico de grande diversidade estrutural e funcional (Freeman, 2006; Silva, 2015). Os lípidos mais hidrófobos, como o colesterol esterificado e os triacilgliceróis ocupam a parte interna das lipoproteínas, enquanto que os menos hidrofóbicos, como o colesterol livre e os fosfolípidos, se encontram, tal como a fração proteica, à superfície

destas estruturas (Figura 1) (Freeman, 2006; Malloy and Kane, 2012; Silva, 2015). O teor proteico das lipoproteínas, conhecido como apolipoproteínas (Apo), desempenha funções estruturais e funcionais importantes no metabolismo lipídico. Estas têm um papel fundamental na interação das lipoproteínas com os recetores, na regulação de algumas enzimas envolvidas nos processos que envolvem a transferência e catabolismo de lípidos, promovendo também a estabilidade e solubilização das lipoproteínas (Freeman, 2006; Silva, 2015; Zárate *et al.*, 2016).

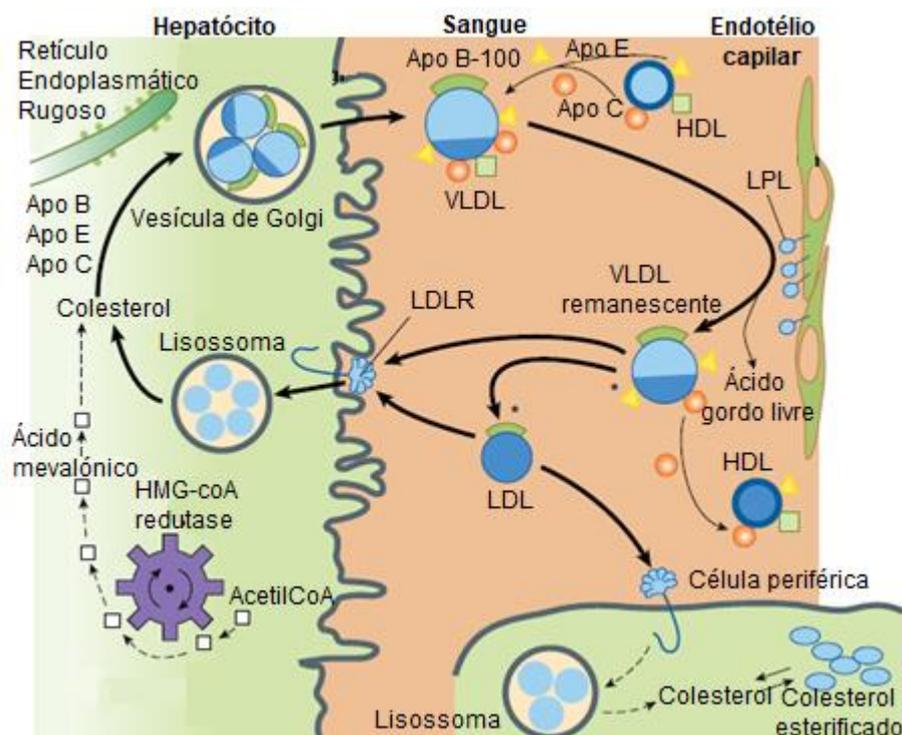


**Figura 1 – Estrutura das lipoproteínas.** As lipoproteínas têm uma superfície externa hidrofílica e um interior hidrofóbico. Na parte externa, são constituídas por colesterol livre, fosfolípidos e Apo e no núcleo hidrofóbico por colesterol esterificado e triacilgliceróis (Adaptado de Dominiczak, 2009).

As lipoproteínas foram tradicionalmente classificadas em função da sua densidade (Silva, 2015). As de menor densidade são também as de maior tamanho e com maior teor em triacilgliceróis, os quilomícrons e as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). As lipoproteínas de densidade intermédia (IDL), também designadas por VLDL remanescentes, têm uma quantidade intermédia de triacilgliceróis e colesterol, enquanto que as LDL e HDL transportam essencialmente colesterol (Freeman, 2006; Zárate *et al.*, 2016). Os quilomícrons constituem o principal veículo de transporte de lípidos da dieta, enquanto as VLDL, LDL e HDL transportam lípidos endógenos (Wu *et al.*, 2017).

O metabolismo das lipoproteínas tem início no intestino onde, a partir dos lípidos provenientes da dieta, são produzidos os quilomícrons, constituídos essencialmente por triacilgliceróis e, em menor percentagem, por colesterol não esterificado, colesterol esterificado e Apo B-48, Apo C-II e Apo E. Pelo sistema linfático entram na corrente sanguínea e, por ação da lipoproteína lipase (LPL), vão perdendo o seu teor em triacilgliceróis, originando os quilomícrons remanescentes (Malloy and Kane, 2012; Wu *et al.*, 2017; Zárate *et al.*, 2016). Estes, com maior percentagem de colesterol e menor em triacilgliceróis, entram no fígado, perdem a maioria do colesterol exógeno, que é eliminado sob a forma de sais biliares e de colesterol livre na bília, levando à formação de VLDL. O processo descrito corresponde à

conhecida via exógena do metabolismo que se refere à absorção e transporte de lípidos provenientes da alimentação até ao fígado e tecidos (Freeman, 2006; Silva, 2015; Wu *et al.*, 2017).



**Figura 2 – Metabolismo das lipoproteínas de origem hepática.** As VLDL nascentes são secretadas a partir do Complexo de Golgi dos hepatócitos e, posteriormente, adquirem a Apo C e Apo E das HDL originando VLDL remanescente por ação da LPL. Algumas VLDL remanescentes são convertidas em LDL por perda de triacilgliceróis e Apo E. A endocitose de LDL através de recetores de LDL (LDLR) no hepatócito e células periféricas é uma importante via de degradação de LDL. A cor azul escura das lipoproteínas diz respeito a colesterol esterificado enquanto que o azul claro a triacilgliceróis; o \* é relativo a um ligando para os recetores de LDL; os triângulos são relativos a Apo E; os círculos e quadrados representam apolipoproteínas (Adaptado de Malloy and Kane, 2012).

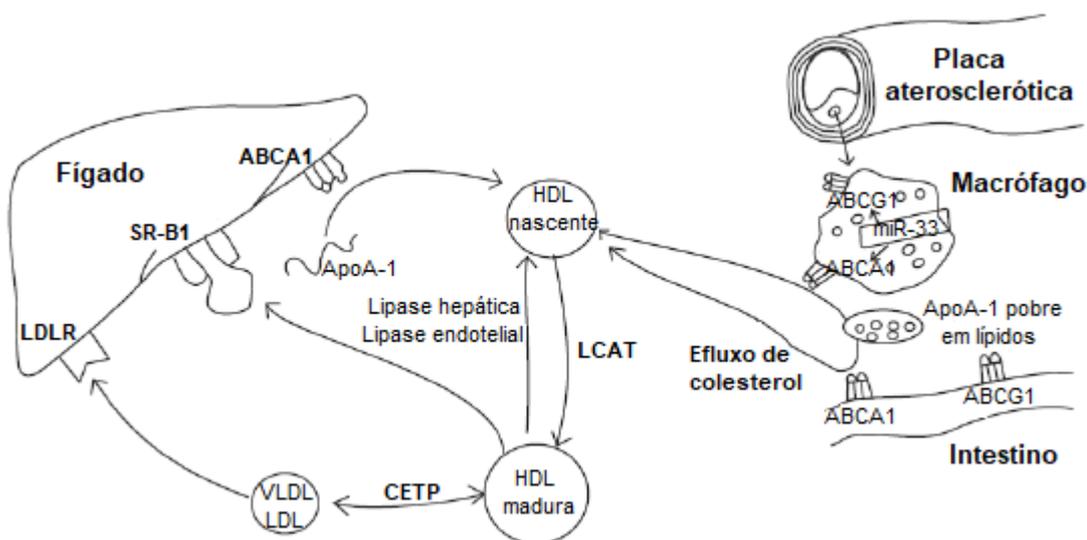
A via endógena do metabolismo das lipoproteínas (Figura 2) tem início no fígado com a síntese de VLDL que contém elevado teor em triacilgliceróis, provenientes da síntese a partir do excesso de glúcidos e lípidos no pós-prandial, e colesterol endógeno, que entram na corrente sanguínea e adquirem Apo B-100, Apo E e Apo C-II das HDL. Os triacilgliceróis são então hidrolisados por ação da LPL produzindo ácidos gordos livres que terão como destino o tecido adiposo onde são armazenados ou oxidados, produzindo adenosina trifosfato (ATP) (Malloy and Kane, 2012; Wu *et al.*, 2017). As VLDL remanescentes poderão sofrer depuração no fígado ou ser convertidas em LDL resultando esta transformação, que é mediada por uma enzima designada por proteína de transferência de ésteres de colesterol (CETP), num aporte cada vez maior em colesterol (Freeman, 2006; Silva, 2015). As LDL são, portanto, as lipoproteínas que permitem o fornecimento de colesterol até aos tecidos, onde irá desempenhar funções essenciais ao nosso organismo. No entanto, pequenas partículas de LDL poderão penetrar a barreira endotelial e depositar-se na matriz extracelular dos espaços

subendoteliais por intermédio da Apo B-100 (Wu *et al.*, 2017). O nível circulante de LDL é determinado em grande parte pela taxa de captação através do recetor hepático de LDL (LDLR), facto esse evidenciado pelo acúmulo maciço de LDL no plasma de doentes com hipercolesterolemia familiar homocigótica com deficiência nos LDLR. Apesar das LDL não serem as únicas lipoproteínas em que é reconhecida ação aterogénica, pois também as lipoproteínas remanescentes resultantes do catabolismo das VLDL e quilomícrons estão envolvidas neste processo, são as LDL que estão mais claramente implicadas (Freeman, 2006). De notar também a lipoproteína (a), formada a partir de LDL e Apo (a) ligadas por pontes dissulfureto, que apresenta também um elevado potencial aterogénico, podendo ser encontrada em placas ateroscleróticas e contribuir para a DCV devido à inibição da trombólise (Malloy and Kane, 2012).

As lipoproteínas HDL, sintetizadas tanto no fígado como no intestino, são altamente heterogéneas em densidade, forma, tamanho e constituição. São comumente conhecidas como “bom colesterol” uma vez que existem evidências epidemiológicas em como têm capacidade de proteção dos tecidos do acúmulo indesejado de colesterol e, portanto, na prevenção do risco cardiovascular, uma vez que permitem manter a homeostase do colesterol. As HDL medeiam o RCT cuja principal função é a remoção do excesso de colesterol dos tecidos periféricos, fazendo o seu retorno até ao fígado para que seja incorporado em VLDL, catabolizado em sais biliares ou excretado para a biliar. Noutras células, que não os hepatócitos, este não é catabolizado nem incorporado em lipoproteínas e, portanto, pode acumular-se e desencadear o processo da aterosclerose (Arora *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2018).

A formação das HDL envolve, primeiramente, uma interação entre a Apo A-I e a cassete com capacidade de ligação ao ATP subfamília A, membro I (ABCA1) resultando num aporte de lípidos pela Apo A-I que culmina com a formação de HDL nascente (Figura 3). Durante a maturação, as HDL vão sofrendo várias alterações, tanto conformacionais como funcionais, permitindo a interação com ABCA1, cassete com capacidade de ligação ao ATP subfamília G, membro I (ABCG1), lecitina colesterol aciltransferase (LCAT) e recetor *scavenger* BI (SR-BI), expressos essencialmente ao nível do fígado e macrófagos. O ABCA1 desempenha um papel fundamental na formação destas lipoproteínas, tal é evidenciado na doença de Tangier em que a mutação no gene que codifica o ABCA1 resulta numa ausência quase total de HDL no plasma dos doentes. O ABCG1, além do ABCA1, facilita também o efluxo de colesterol dos tecidos periféricos durante a fase de maturação das HDL. A LCAT trata-se de uma enzima sintetizada no fígado com capacidade de esterificação do colesterol das HDL, resultando na formação de HDL maduras. Uma deficiência em LCAT poderá estar associada a uma maior

incidência de aterosclerose, uma vez que, a não transformação de HDL nascentes em maduras, condiciona a entrega do colesterol dos tecidos periféricos aos hepatócitos. As HDL maduras podem entregar o colesterol no fígado para que este seja eliminado por diferentes vias (Figura 3). Na via mediada pelo SR-B1, este recetor liga-se às partículas esféricas de HDL mediando a captação seletiva do colesterol esterificado das HDL para os hepatócitos. Numa outra via, por ação da CETP, o colesterol esterificado das HDL é transferido para lipoproteínas contendo Apo B, como as LDL e VLDL, sendo posteriormente captado pelo fígado através de LDLR. A terceira via de captação de colesterol a nível hepático ocorre por endocitose das HDL (Aryal *et al.*, 2017; Arora *et al.*, 2016; Yu *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018).



**Figura 3 – Esquema representativo do metabolismo das lipoproteínas HDL.** A Apo A-I é sintetizada tanto no fígado como no intestino como partículas pobres em lípidos. Por ação do ABCA1 e do ABCG1, estas aportam colesterol e fosfolípidos dos tecidos periféricos, de células como enterócitos e macrófagos. O colesterol livre transferido é esterificado pela LCAT originando as HDL maduras. Por ação da CETP, o colesterol esterificado das HDL maduras é transferido para as VLDL e LDL com subsequente absorção no fígado através do LDLR. As restantes HDL maduras podem ser captadas por SR-B1 ou modificadas pela lipase hepática e lipase endotelial, que hidrolisam fosfolípidos e triacilgliceróis (Adaptado de Arora *et al.*, 2016).

### Hipercolesterolemia e terapia farmacológica

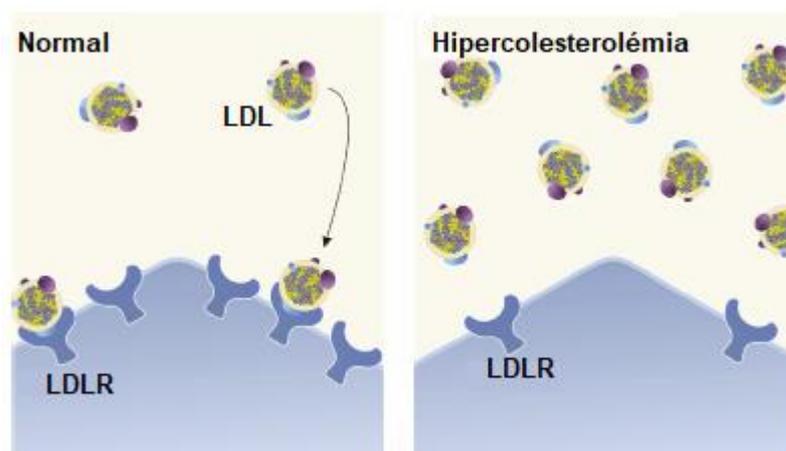
Uma dislipidemia refere-se a alterações no teor em lípidos do sangue, que compreende um aumento dos níveis de triacilgliceróis ou um aumento de c-LDL, uma combinação de ambos, e ainda um abaixamento dos níveis de colesterol das HDL (c-HDL). A dislipidemia é um dos fatores de risco mais relevantes para a DCV, sendo que, um terço da doença isquémica cardíaca é atribuída ao colesterol elevado. Dado que a hipercolesterolemia é a designação que respeita a valores de c-LDL aumentados comparativamente aos normais, e a lipoproteína LDL aquela que mais contribui para o processo aterosclerótico será, de seguida, feita uma abordagem ao tema da hipercolesterolemia e possíveis estratégias farmacológicas e não

farmacológicas no seu controlo, numa tentativa de prevenir a DCV (Bertrand and Tardif, 2016).

A hipercolesterolemia poderá estar associada tanto a fatores genéticos como nutricionais e ambientais, estando-se no primeiro caso perante uma hipercolesterolemia familiar e, nos restantes, uma hipercolesterolemia adquirida. A hipercolesterolemia adquirida está muito relacionada com consumo de dietas ricas em gorduras, no entanto, também o tabagismo, a diabetes, a hipertensão arterial e a obesidade poderão ser fatores de risco, estando sempre associada alguma predisposição genética na sua origem (Bertrand and Tardif, 2016). Estes fatores de risco podem conduzir à saturação e supressão dos LDLR (Figura 4), glicoproteínas transmembranares que removem o colesterol das lipoproteínas contendo Apo B em circulação, através do reconhecimento do domínio N-terminal. A proteína I do adaptador do LDLR (LDLRAPI) trata-se de uma proteína citosólica que contém um domínio de ligação à fosfotirosina N-terminal que interage com o LDLR facilitando a depuração das LDL circulantes (Figura 5). O complexo LDL/LDLR é posteriormente internalizado por endocitose, mediante ligação nas regiões contendo clatrina e, desse modo, é impedida a circulação de colesterol em excesso (Melendez *et al.*, 2017; Momtazi *et al.*, 2018; Yu *et al.*, 2018; Zárate *et al.*, 2016).

A hipercolesterolemia familiar é um dos distúrbios metabólicos hereditários mais comuns, resultando em níveis anormalmente elevados de c-LDL. Quando não tratada, apresenta risco aumentado de formação de placas ateroscleróticas e DCV em idade mais jovem do que aquela em que geralmente ocorre (Defesche *et al.*, 2017; Hartgers *et al.*, 2015). Esta está normalmente associada a mutações nos genes que codificam os LDLR, no entanto, também poderá ser causada por mutações em genes que afetam a função dos LDLR, como a Apo B, que codifica a Apo B-100 responsável pela ligação do LDL ao LDLR, e o codificador da pró-proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9), que se liga aos LDLR promovendo a sua degradação intracelular. Estas mutações causam uma eliminação deficiente do c-LDL via LDLR hepático, levando a um aumento dos níveis desde o nascimento e à sua deposição na parede arterial, acelerando a aterosclerose e o risco de DCV prematura (Defesche *et al.*, 2017; Momtazi *et al.*, 2018). O diagnóstico precoce da hipercolesterolemia familiar é fundamental a fim de prevenir eventos cardiovasculares, sendo este baseado em parâmetros clínicos como os níveis lipídicos, presença de xantomas ou xantelasmas que resultam da acumulação de colesterol na pele (Anexo I), história familiar de doença vascular e um diagnóstico definitivo baseado na identificação de uma mutação em qualquer um dos genes (Defesche *et al.*, 2017; Hartgers *et al.*, 2015; Melendez *et al.*, 2017; Momtazi *et al.*, 2018). A DCV em portadores de hipercolesterolemia familiar difere se esta for heterozigótica, que geralmente sofrem eventos

cardiovasculares na quarta década de vida, ou homozigótica, a forma mais rara, podendo, neste caso, os doentes ter complicações cardiovasculares na segunda década de vida ou mesmo na infância, sendo os valores de c-LDL extremamente elevados (Hartgers *et al.*, 2015; Melendez *et al.*, 2017).



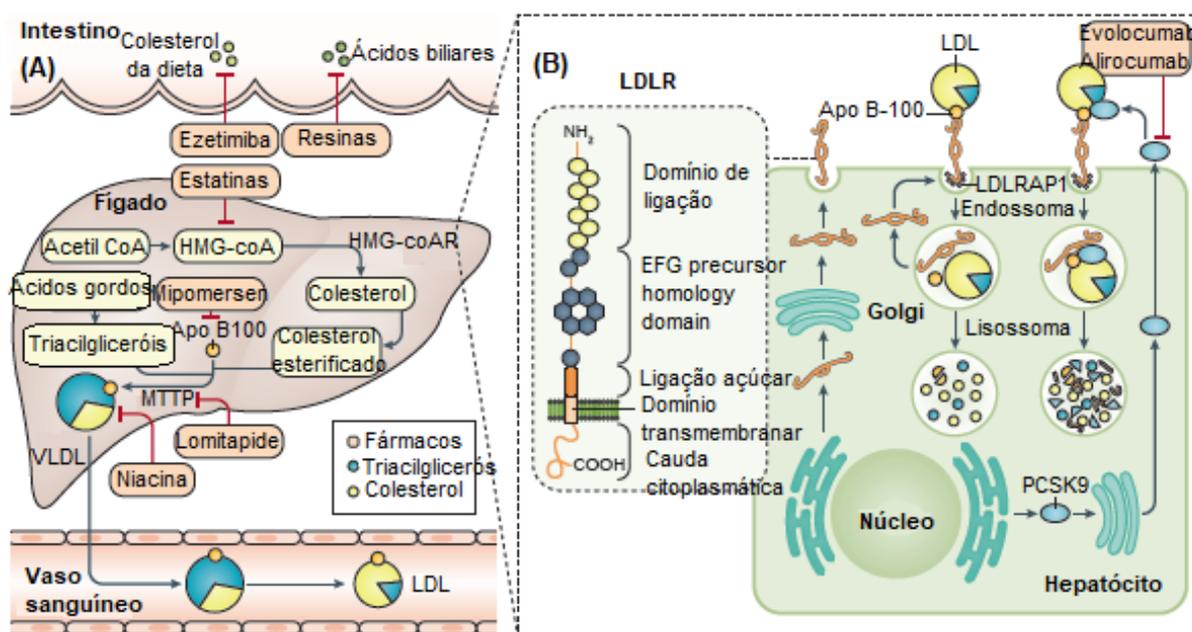
**Figura 4 – Recetores de LDL.** Em condições normais, os LDLR dos hepatócitos removem o colesterol proveniente das lipoproteínas contendo Apo B, nomeadamente das LDL, do sangue (esquerda). Quando os LDLR não são suficientes, ou porque se encontram saturados ou suprimidos pelo excesso de colesterol circulante sob a forma de LDL, os indivíduos apresentam hipercolesterolemia e risco cardiovascular aumentado (direita) (Adaptado de Zárate *et al.*, 2016).

Quando há excesso de LDL circulante, resultante da ausência de catabolismo por deficiência nos LDLR dos hepatócitos, uma grande quantidade de colesterol poderá ser depositada na parede arterial. Por outro lado, se também os níveis de HDL forem insuficientes, a predisposição para a ocorrência de aterosclerose é aumentada. O objetivo é, portanto, impedir que este e outros eventos cardiovasculares ocorram, daí a grande importância do diagnóstico precoce da hipercolesterolemia, visto que poderá impulsionar o processo aterosclerótico (Hartgers *et al.*, 2015; Zárate *et al.*, 2016). Contudo, como referido anteriormente, a prevenção da aterosclerose passa por muitas medidas que poderão ser tomadas por cada indivíduo a fim de atingir um estilo de vida mais saudável. O controlo da hipertensão, da diabetes, recomendações dietéticas, atividade física regular e evicção tabágica são fundamentais, no entanto, na maioria das vezes não são suficientes e terá de ser iniciada terapia farmacológica (Bertrand and Tardif, 2016; Defesche *et al.*, 2017; Zárate *et al.*, 2016). Com base nos diferentes fatores de risco que poderão contribuir para a ocorrência de eventos cardiovasculares tal como o sexo, história familiar de DCV, hipertensão, hábitos tabágicos, diabetes *mellitus*, obesidade, sedentarismo, elevação dos níveis de triacilgliceróis, baixos níveis de c-HDL e elevados de c-LDL, é possível avaliar o risco cardiovascular de uma pessoa entre 40 e 65 anos de idade recorrendo ao *Systematic Coronary Risk Evaluation (SCORE)* (Anexo 2, 3 e 4). Com a terapia farmacológica é objetivo que um doente com um risco cardiovascular

baixo (SCORE <1%) a moderado (SCORE entre 1% e 5%) mantenha os valores de c-LDL abaixo de 115 mg/dl. Um indivíduo com risco elevado (SCORE entre 5% e 10%), dislipidemia familiar aterogénica e hipertensão de grau 3 ( $\geq 180$  mmHg e/ou  $\geq 110$  mmHg) pretende-se que mantenha um valor de c-LDL <100 mg/dl e, um doente com risco cardiovascular muito elevado, ou seja, DCV diagnosticada, diabetes *mellitus* associada a outros fatores de risco e/ou lesão de órgão-alvo, doença renal crónica grave [TFG <30 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>] ou um valor de SCORE  $\geq 10\%$ , é meta terapêutica a obtenção de um valor de c-LDL inferior a 70 mg/dl (Norma DGS n.º 005/2013, Norma DGS n.º 019/2011).

As estatinas, inibidores da HMG-coA redutase, enzima chave na síntese endógena de colesterol, são os fármacos de primeira linha no tratamento da hipercolesterolemia pelos estudos de eficácia e segurança e pela sua aceitabilidade por parte dos doentes (Figura 5). As estatinas foram introduzidas em 1990 e, desde então, numerosos estudos têm demonstrado a sua elevada eficácia na redução dos níveis de c-LDL resultando numa diminuição da mortalidade e morbidade cardiovascular (Hartgers *et al.*, 2015; Mohajeri *et al.*, 2018). A terapia com estatinas é altamente eficaz conseguindo-se reduções no c-LDL até 60%, especialmente quando é prescrita a rosuvastatina (Anexo 5), sendo que a probabilidade de ocorrência de eventos cardiovasculares diminui tanto na prevenção primária como na secundária. No entanto, há possibilidade de alguns doentes serem incapazes de tolerar esta classe terapêutica em doses suficientes para reduzir os níveis de c-LDL para os valores recomendados. A mialgia ou miopatia é um efeito secundário comum, podendo esta ser confirmada pela observação de altos níveis de creatinina quinase, apesar de nem sempre a dor muscular vir acompanhada de uma elevação deste parâmetro. Esta intolerância é geralmente dose-dependente podendo ser revertida quando o tratamento com a estatina é modificado por uma outra ou interrompido. É de extrema importância que o profissional de saúde que faz o acompanhamento do doente, nomeadamente o farmacêutico, tenha em consideração este possível efeito, já que muitas vezes uma redução insuficiente nos níveis de c-LDL está associada, não à falta de eficácia da estatina, mas sim à falta de adesão à terapêutica. Além de queixas musculares, a toma destes fármacos também pode provocar danos no fígado e uma maior predisposição para a ocorrência de diabetes *mellitus* tipo 2 (Bertrand and Tardif, 2016; Melendez *et al.*, 2017). A variabilidade de resposta às estatinas na redução do c-LDL é outra das grandes preocupações, especialmente quando prescritas em baixas doses. A idade, a raça, o sexo, a dose e antecedentes genéticos são alguns dos fatores conhecidos por afetar essa variabilidade (Zambrano and Salazar, 2018). Apesar dos efeitos adversos, têm sido identificados efeitos benéficos com a toma de estatinas além do efeito direto no metabolismo lipídico, uma vez que possuem efeitos pleiotrópicos incluindo efeitos anti-inflamatórios,

propriedades antioxidantes e anti-trombose, melhoria da função endotelial e redução do remodelamento vascular ajudando a prevenir a aterosclerose por meio de vários mecanismos (Mohajeri *et al.*, 2018; Zambrano *et al.*, 2018).



**Figura 5 – (A)** O colesterol proveniente da dieta e os ácidos biliares sofrem absorção na porção superior e inferior do intestino delgado, respectivamente. Mediante ação do inibidor da absorção de colesterol ezetimiba e sequestradores de sais biliares, caso das resinas, esta absorção é interrompida. A síntese de colesterol ocorre maioritariamente ao nível do fígado por um processo que tem início com a acetil-CoA. As estatinas têm capacidade de inibir a HMG-coA redutase. Triacilgliceróis são sintetizados a partir de ácidos gordos e, por ação da proteína microsomal de transferência de triacilgliceróis (MTTP), os triacilgliceróis e colesterol esterificado reúnem-se em partículas de VLDL nascente que apresentam Apo B-100 à superfície. Por ação de lipases, as VLDL originam LDL cujo catabolismo ocorre em LDLR nos hepatócitos. **(B)** Após a síntese e secreção no Retículo Endoplasmático, os LDLR sofrem processamento no Complexo de Golgi por adição de açúcares que se irão agrupar dentro de cavidades na membrana plasmática revestidas de clatrina. O domínio de ligação do LDLR interage com a Apo B-100 das LDL levando à endocitose do complexo. Dentro da célula, as LDL dirigem-se até ao lisossoma para serem degradadas enquanto que o LDLR é reciclado à superfície. O colesterol no meio intracelular aumenta a expressão de PCSK9, processada no Retículo Endoplasmático, que é secretada para o plasma. Na presença de PCSK9, todo o complexo que sofre endocitose é degradado promovendo, desse modo, a reciclagem de LDLR e diminuindo a capacidade de catabolismo de LDL (Adaptado de Defesche *et al.*, 2017).

Embora as estatinas sejam a terapia hipolipemiante mais eficaz na prevenção de eventos cardiovasculares, existe uma clara necessidade de alternativas terapêuticas para a prevenção da DCV. Mais de metade dos pacientes com hipercolesterolemia familiar não consegue alcançar os valores de c-LDL recomendados, mesmo usando doses máximas (Bertrand and Tardif, 2016; Momtazi *et al.*, 2018). Em pacientes com hipercolesterolemia familiar heterozigótica, já com evidências de DCV, menos de 10 a 20% atingem um nível de c-LDL inferior a 70 mg/dL com a terapia medicamentosa convencional (Momtazi *et al.*, 2018). Na homozigótica, em alguns doentes, apesar das estatinas poderem ser eficazes, os efeitos sobre os níveis plasmáticos de c-LDL poderão não ser suficientes devido à deficiência severa na função dos LDLR e, nesse caso, a adição de fármacos como o Mipomersen, um oligonucleótido

*antisense*, e Lomitapide, um inibidor da proteína microsomal de transferência de triacilgliceróis (MTTP), poderá ser necessária (Figura 5) (Defesche *et al.*, 2017; Hartgers *et al.*, 2015; Momtazi *et al.*, 2018).

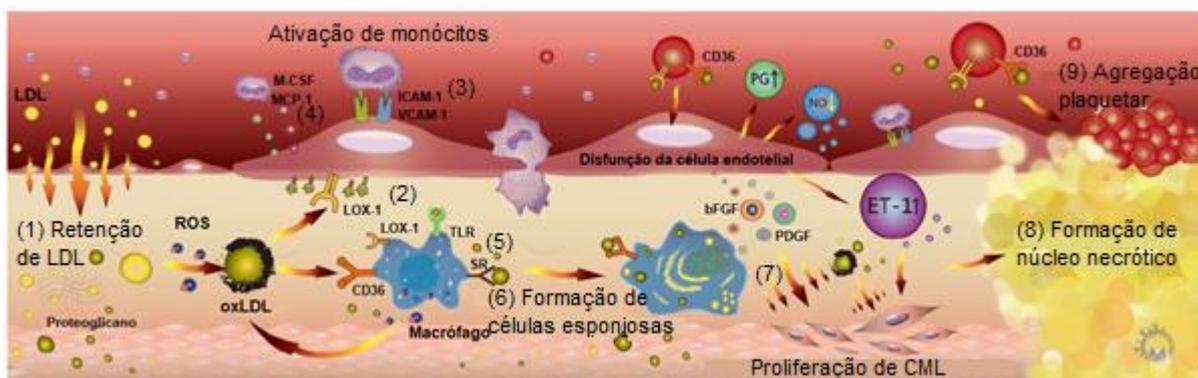
Numa hipercolesterolemia comum, quando os valores alvo de c-LDL não são atingidos pelas estatinas, a adição à terapêutica de ezetimiba, um inibidor da absorção de colesterol, é recomendada (Figura 5). Devido à redução da absorção do colesterol no intestino, há um aumento compensatório dos LDLR nos hepatócitos e, conseqüentemente, uma redução em cerca de 20% do c-LDL. A ezetimiba também pode ser prescrita em monoterapia para indivíduos que não toleram as estatinas, no entanto, é preferencialmente administrada em combinação, estando demonstrado que esta resulta numa redução adicional do c-LDL e melhoria nas ocorrências cardiovasculares (Bertrand and Tardif, 2016; Hartgers *et al.*, 2015; Yu *et al.*, 2018).

Atualmente já se encontram também aprovados e comercializados anticorpos monoclonais como o Evolocumab e Alicumab contra a PCSK9, uma serina protease que é secretada pelos hepatócitos e é responsável pela reciclagem dos LDLR (Figura 5). A PCSK9 controla os níveis de LDL no plasma, influenciando principalmente os níveis de expressão do LDLR na superfície das células hepáticas. Esta opção terapêutica é geralmente válida para hipercolesterolemias mais graves, normalmente em associação às estatinas, em que o objetivo é aumentar o número de LDLR no fígado diminuindo os níveis circulantes de c-LDL (Defesche *et al.*, 2017; Hartgers *et al.*, 2015; Melendez *et al.*, 2017).

### **Fisiopatologia da aterosclerose**

A aterosclerose é uma doença que se desenvolve silenciosamente ao longo de várias décadas, resultado do acúmulo de lipídios, especialmente colesterol, nas paredes dos vasos sanguíneos e infiltração de células do sistema imune como macrófagos e células T. Além dos elevados níveis de c-LDL no sangue, baixos níveis c-HDL, níveis elevados de proteína C reativa, um marcador da inflamação, diabetes *mellitus*, hipertensão arterial, tabagismo, obesidade e história familiar de doença coronária poderão contribuir para o desenvolvimento da doença. As placas ateroscleróticas causam estreitamento das artérias, o que poderá limitar o acesso de oxigênio e nutrientes até aos órgãos e tecidos (Melendez *et al.*, 2017). Tal como referido anteriormente, são as lipoproteínas contendo Apo B, em especial o colesterol proveniente das LDL, que têm um papel central no processo. Por ação da Apo B, ocorre ligação das lipoproteínas ao proteoglicano da matriz extracelular, permitindo a sua penetração até ao espaço subendotelial, processo esse que está muito dependente da permeabilidade/integridade do endotélio, podendo esta ser alterada por fatores genéticos, stress oxidativo e infeções

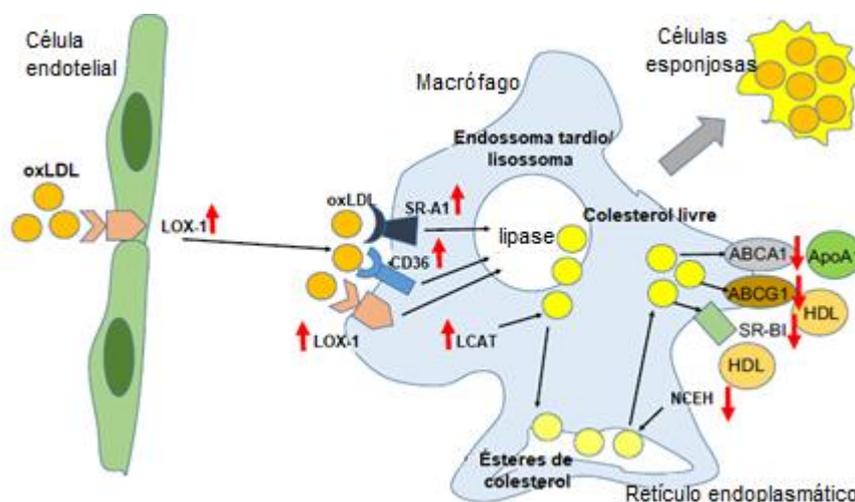
(Bertrand and Tardif, 2016; Melendez *et al.*, 2017). A retenção de LDL na parede do vaso é considerada o primeiro passo na patogênese da aterosclerose (Wu *et al.*, 2017).



**Figura 6 – Mecanismo desencadeante da aterosclerose.** As LDL de pequena dimensão têm capacidade de penetrar até ao espaço endotelial onde se ligam ao proteoglicano por meio da Apo B-100 levando à sua retenção (1). Por fenómenos oxidativos, forma-se LDL oxidadas (oxLDL) que desencadeiam uma série de reações inflamatórias, nomeadamente por via do recetor lectin-like oxLDL receptor-1 (LOX-1) (2). As oxLDL conduzem também a um aumento da expressão de moléculas de adesão intracelular-1 (ICAM-1) e moléculas de adesão vascular (VCAM-1) que promovem o aumento da adesão de monócitos e outras células inflamatórias ao endotélio (3). As células endoteliais e células do músculo liso (CML) são estimuladas levando à secreção *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1) e *macrophage colony stimulating factors* (M-CSF) (4). Verifica-se um aumento das espécies reativas de oxigénio (ROS) e diminuição na produção de óxido nítrico (NO) resultante da presença de oxLDL. Ocorre diferenciação de monócitos em macrófagos, que expressam recetores *scavenger* (SR), *cluster of differentiation 36* (CD36), LOX-1 e recetor *Toll-like* (TLR) (5). A retenção de oxLDL conduz à apoptose de células esponjosas e progressão da inflamação (6). As oxLDL promovem também a expressão do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e do fator de crescimento básico de fibroblastos (bFGF) (7). Verifica-se um espessamento da placa aterosclerótica e formação de um núcleo necrótico resultante da proliferação de CML (8). Mediante interação das oxLDL com os recetores CD36 à superfície de plaquetas em repouso ocorre agregação plaquetária (9) e ativação destas que passam a expressar LOX-1 interferindo na adesão das células endoteliais. A função endotelial é afetada verificando-se também uma diminuição do NO e aumento da síntese de prostaglandinas (Adaptado de Wu *et al.*, 2017).

No espaço subendotelial, a LDL é oxidada por ação de diferentes células e moléculas, como mieloperoxidase, lipoxigenase e espécies reativas de oxigénio (ROS), levando ao aparecimento de células mediadoras da resposta inflamatória inata e produção de fatores quimiotáticos como *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1) e *macrophage colony stimulating factors* (M-CSF) (Figura 6). A hipertensão, a hiperglicémia, a dislipidémia e o tabagismo favorecem a produção de espécies oxidantes impedindo que a resposta antioxidante do próprio organismo seja suficiente para reverter o processo, comprometendo, desse modo, a função endotelial (Gisterã and Hansson, 2017; Wu *et al.*, 2017). As LDL oxidadas (oxLDL), sofrem modificação na Apo B por quebra de ligações peptídicas na cadeia de aminoácidos, deixando esta de ser reconhecida pelo LDLR e, portanto, a sua remoção da circulação fica comprometida. As LDL minimamente oxidadas, formadas inicialmente, ainda podem ser reconhecidas pelos LDLR, no entanto, possuem atividade pró-inflamatória (Melendez *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2017). As propriedades adesivas vão sendo cada vez mais evidentes pela expressão aumentada de moléculas de adesão intracelular (ICAM-1) e moléculas de adesão

vascular (VCAM-1), que conduzem a um aumento da migração de monócitos para a íntima (Gisterå and Hansson, 2017; Wu *et al.*, 2017). Estes, por ação do M-CSF, diferenciam-se em macrófagos que expressam recetores *scavenger* (SR) com capacidade de internalizar grandes quantidades de oxLDL, os quais reconhecem como moléculas estranhas (Bertrand and Tardif, 2016; Gisterå and Hansson, 2017; Yu *et al.*, 2018).



**Figura 7 – Mecanismo dos lipídios em macrófagos.** Os macrófagos têm SR, que permitem a detecção e ligação a oxLDL, tais como o LOX-1, CD36 e recetor *scavenger* classe A (SR-A) fazendo o seu transporte até à íntima. Nos endossomas/lisossomas tardios, a lipase ácida lisossômica degrada o colesterol esterificado, altamente presente nas LDL, levando à libertação de colesterol e ácidos gordos livres. Por ação da LCAT, o colesterol livre formado é novamente esterificado no retículo endoplasmático, onde vai sendo acumulado. A éster colesterol-hidrolase neutra (NCEH) processa este colesterol esterificado libertando o colesterol livre que é transportado para o exterior da célula por meio de ABCA1 e ABCG1 e SR-BI. A Apo A-I serve como aceitador do colesterol transportado pelo ABCA1 e a HDL aceita o colesterol proveniente do ABCG1 e SR-BI. Numa situação normal, a homeostase de colesterol é garantida, no entanto perante doença aterosclerótica, todo este mecanismo é afetado. Há uma expressão aumentada de SR à superfície dos macrófagos conduzindo a uma absorção aumentada de oxLDL. Por outro lado, a expressão dos transportadores ABCA1 e ABCG1 é suprimida, o que diminui o efluxo de colesterol para as HDL, promovendo a sua deposição nos macrófagos. A expressão de LCAT é aumentada e a de NCEH diminuída, conduzindo ao acúmulo de colesterol esterificado nestas células. A junção destes mecanismos conduz à transformação de macrófagos em células esponjosas pela deposição de lipídios em excesso no seu interior (Adaptado de Chistiakov *et al.*, 2017).

A captação descontrolada de colesterol é um fator importante que leva à formação de células esponjosas, as células características da lesão aterosclerótica. Os macrófagos expressam uma grande variedade de SR (Figura 7), sendo o recetor *scavenger* classe A (SR-A), *cluster of differentiation 36* (CD36) e *lectin-like oxLDL receptor-1* (LOX-1) aqueles que demonstraram ter um papel mais significativo no processo (Chistiakov *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2018). Os macrófagos possuem também transportadores, o ABCA1, o ABCG1 e o SR-BI envolvidos no RCT, que se encontram diminuídos durante a aterosclerose, agravando ainda mais todo o processo. Estas células imunes apresentam ainda maquinaria enzimática como a LCAT que participa na esterificação do colesterol e éster colesterol-hidrolase neutra (NCEH) que o hidrolisa, libertando o colesterol livre. O equilíbrio entre a esterificação e hidrólise do colesterol poderá determinar a conversão dos macrófagos em

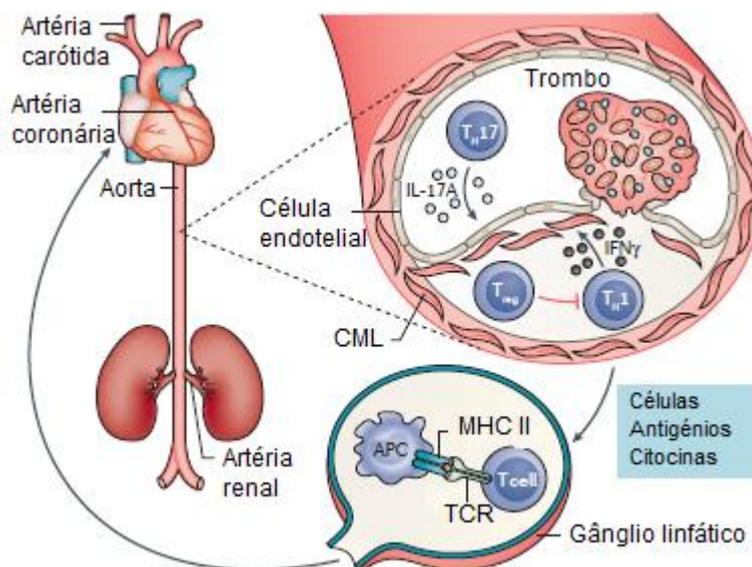
células esponjosas. A formação de colesterol esterificado tem um papel crucial nesta transformação, estando a supressão de NCEH associada a fenómenos de aterosclerose. O excesso de colesterol proveniente das LDL é, portanto, esterificado e armazenado no citoplasma, conduzindo à formação de células esponjosas (Chistiakov *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2018).

A proliferação das células esponjosas gera uma placa de lípidos que permite a progressão do processo inflamatório, sendo constantemente recrutados monócitos que, após diferenciação, tal como células endoteliais e células do músculo liso (CML), libertam fatores de crescimento e citocinas (Bertrand and Tardif, 2016; Melendez *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2018). A progressão da inflamação também pode ser induzida pela interleucina 1 (IL-1), fator de necrose tumoral, ROS e metaloproteases por intermédio de macrófagos (Wu *et al.*, 2017). As CML vão proliferando por ação de alguns fatores de crescimento, tal como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e o fator de crescimento básico de fibroblastos (bFGF) cuja expressão é induzida pelas oxLDL.

Por necrose das células esponjosas, gotículas de colesterol esterificado acumulam-se na íntima da artéria, levando à formação de um núcleo necrótico. A partir de elementos fibrosos das CML, forma-se a capa fibrosa, cada vez mais suscetível à rutura, que separa o ateroma do fluxo sanguíneo causando, conseqüentemente, a sua diminuição e aumento da pressão arterial pelo estreitamento da artéria (Gisterå and Hansson, 2017; Melendez *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2017). A função endotelial fica comprometida verificando-se um aumento da síntese de prostaglandinas e diminuição da produção de óxido nítrico (NO), um mediador químico que, produzido pela sintetase endotelial de NO, apresenta propriedades anti-aterogénicas, com capacidade de regular o tónus vascular, a homeostase da pressão arterial, a fibrinólise e a adesão de plaquetas e leucócitos. A endotelina-1 (ET-1) é um peptídeo de vinte e um aminoácidos que regula a vasoconstrição, a inflamação e a proliferação de células endoteliais por interações com NO (Figura 6) (Wu *et al.*, 2017).

A aterosclerose é uma doença progressiva e silenciosa cujas manifestações só se verificam quando há rutura ou erosão das placas ateroscleróticas. Os sintomas surgem quando a capa fibrosa de colagénio não suporta a força pulsátil da pressão sanguínea formando-se fissuras à superfície. As células que expressam o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe II, juntamente com um número substancial de células T, que estão presentes nas placas ateroscleróticas em todas as fases da doença, formam a base da resposta imune adaptativa (Figura 8) que apresenta um papel crucial na formação, estabilidade e rutura da placa. A trombose é desencadeada à superfície quando uma placa se rompe, levando à exposição do material do núcleo necrótico, células apoptóticas, necróticas, restos celulares e

cristais de colesterol, seguido de agregação plaquetária, coagulação e formação de um trombo, resultando numa oclusão aguda do fluxo sanguíneo que, na artéria carótida, poderá conduzir a AVC e na artéria coronária a enfarte do miocárdio, consequências que ameaçam a vida (Gisterå and Hansson, 2017; Wu et al., 2017).



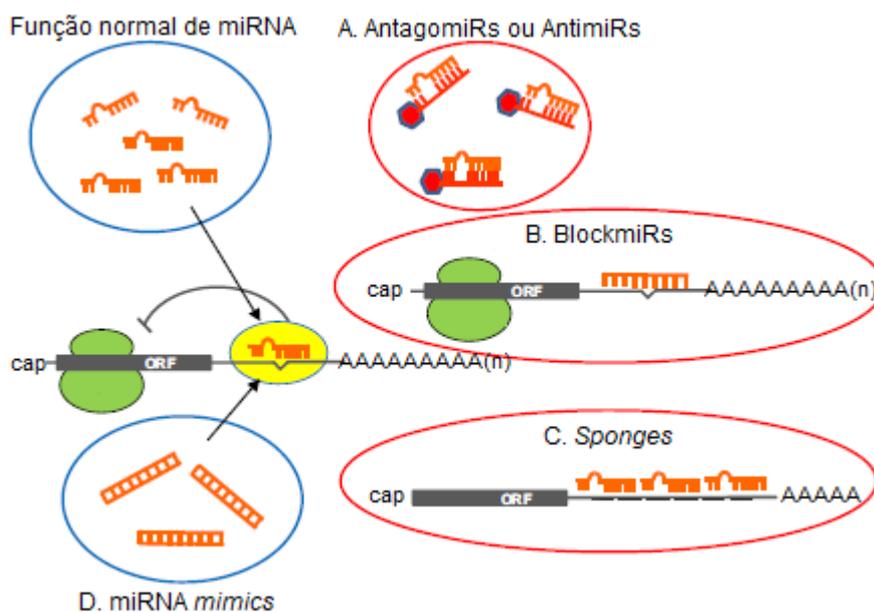
**Figura 8 – Imunidade adaptativa na aterosclerose.** Na artéria renal o comprometimento do fluxo sanguíneo poderá resultar em hipertensão secundária. O papel da imunidade adaptativa na formação, estabilidade e rutura da placa aterosclerótica é fundamental. Células T helper ( $T_H$ )17 secretam IL-17 que promove a estabilidade da placa, aumentando a deposição de colagénio pelas CML conduzindo a um aumento da formação da capa. As células  $T_H$ 1 produzem interferão- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) que promove a ativação dos macrófagos e inflamação e, contraria a formação da capa fibrosa pela degradação do colagénio e inibição das CML. As placas tornam-se cada vez mais vulneráveis à rutura. As células T reguladoras (Treg) medeiam ações pró-inflamatórias de outras  $T_H$  e limitam a ação das células  $T_H$ 1 na placa. Enquanto que as células esponjosas têm capacidade migratória reduzida, outras células da imunidade migram com facilidade até aos gânglios linfáticos onde ocorrem interações imunológicas importantes. Os antígenos derivados da placa no gânglio linfático que drena a artéria aorta são apresentados por meio de células apresentadoras de antígeno (APC) a numerosas células T. Uma célula  $T_H$  ativada diferencia-se numa célula T efetora. As células T efetoras retornam à circulação sanguínea migrando até a locais de inflamação, tal como a lesão aterosclerótica. A apresentação local de antígenos nas placas ateroscleróticas pode reativar as células T, levando a uma maior diferenciação. TCR: recetor de células T (Adaptado de Gisterå and Hansson, 2017).

## **PAPEL DOS miRNAS NA HOMEOSTASE DO COLESTEROL**

Os miRNAs correspondem a uma classe de pequenos RNAs endógenos, não codificantes, que surgiram como importantes reguladores de uma ampla variedade de funções fisiológicas, desde o desenvolvimento e regulação metabólica, até ao envelhecimento e progressão da doença (Aryal et al., 2017; Rotlan et al., 2016). Têm sido identificados como reguladores-chave de diferentes patologias tal como a obesidade, resistência à insulina, aterosclerose e insuficiência cardíaca (Sodi et al., 2017; Zhang et al., 2018). Descobertos pela primeira vez em *Caenorhabditis elegans*, correspondem a sequências não codificantes de aproximadamente vinte e dois nucleótidos envolvidas na regulação da expressão génica a um nível pós-transcricional (Aryal et al., 2017; Sodi et al., 2017). Nas últimas décadas foi

evidenciado um papel crítico dos miRNAs na homeostase do colesterol, tendo sido extensivamente estudado a sua importância na biologia e fisiopatologia das DCV (Aryal *et al.*, 2017; Sodi *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018). Devido à sua capacidade de modular a expressão e função de fatores de transcrição, enzimas e recetores que regulam o metabolismo das lipoproteínas, os miRNAs controlam a génese e o metabolismo destas, tendo sido também identificados como agentes reguladores de diferentes etapas do processo aterosclerótico (Laffont and Rayner, 2017).

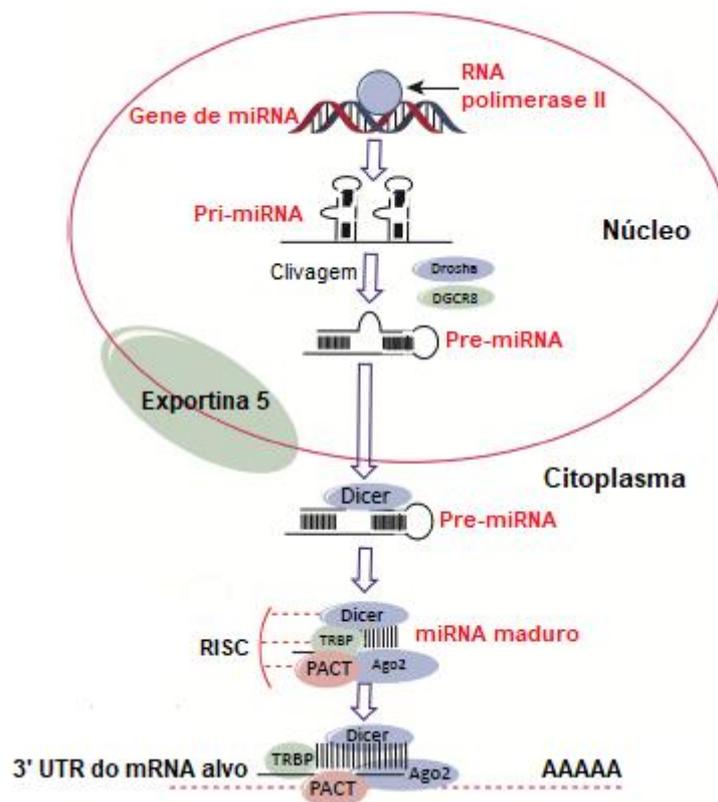
Pela grande resistência em circulação, devido em parte ao seu transporte por exossomas e lipoproteínas, como as HDL, muitos estudos têm se focado na possibilidade de miRNAs funcionarem como biomarcadores do desenvolvimento e progressão da doença, também pela sua conservação entre espécies e fácil deteção em fluidos circulantes (Ono, 2016; Rotlan *et al.*, 2016; Sodi *et al.*, 2017). Têm também sido investigados como alvos terapêuticos promissores na redução do c-LDL e aumento do c-HDL por meio de abordagens que exploram o silenciamento génico dependente de miRNA ou mimetizadores de miRNA (Figura 9) (Feinberg and Moore, 2016; Momtazi *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). A multiplicidade de alvos que os miRNAs podem apresentar permite que estes regulem várias etapas da evolução da doença (Laffont and Rayner, 2017).



**Figura 9 – Estratégias de manipulação de miRNAs.** A vermelho encontram-se representadas as estratégias para aumentar a expressão do gene alvo e a azul para a reduzir. A inibição de miRNAs pode ocorrer por meio de oligonucleótidos *antisense* e *sponges*. Os oligonucleótidos *antisense* apresentam cadeia simples e são complementares ao miRNA maduro, caso dos antagomiRs, antimiRs e blockmiRs. Os blockmiRs ao terem como alvo o local de ligação do miRNA a um gene alvo específico, têm a particularidade de ter como alvo um mRNA específico permitindo ao miRNA regular outros genes alvo. As *sponges* diferem dos oligonucleótidos *antisense* ao apresentarem múltiplos locais de ligação ao miRNA alvo. De modo a aumentar a expressão de miRNAs que se encontram diminuídos em células e tecidos doentes foram desenvolvidas estratégias para mimetizar a ação desses miRNAs. Os miRNAs *mimics* são oligonucleótidos sintéticos que poderão exercer a sua ação por intermédio de partículas não virais como nanopartículas de lipossomas ou partículas virais (Adaptado de Ono, 2016).

## Processo de formação e modo de ação dos miRNAs

A formação de miRNA é um processo complexo que compreende várias etapas que ocorrem de modo sequencial (Figura 10). No núcleo, ocorre transcrição de genes por ação de RNA polimerase II formando transcritos de miRNA primário (pri-miRNA) de estrutura *stem-loop*. Por ação de uma endonuclease do tipo III, Drosha, e *DiGeorge syndrome chromosomal region 8* (DGCR8), o pri-miRNA é processado conduzindo à formação do precursor de miRNA (pre-miRNA). O pre-miRNA é posteriormente transferido para o citoplasma por ação de uma proteína de dupla cadeia de RNA, a Exportina 5, que o reconhece e procede ao seu transporte. Já no citoplasma a molécula sofre ação de uma outra endonuclease do tipo III, Dicer, que a cliva permitindo a formação do RNA de dupla cadeia maduro. O miRNA *duplex* formado, em associação à proteína Argonata 2 (Ago 2), forma um complexo de silenciamento de genes induzido por RNA (RISC) que permite a clivagem da molécula. Uma das cadeias dará origem ao miRNA maduro que, ao ligar-se ao mRNA alvo, induz o silenciamento de genes.



**Figura 10 – Biogênese de miRNA.** No núcleo, ocorre transcrição de genes de miRNA por ação da RNA polimerase II formando o pri-miRNA que é posteriormente processado por uma endonuclease RNase III, a Drosha e o DGCR8 originando o pre-miRNA. Estes são então transportados até ao citoplasma pela Exportina 5 onde sofrem processamento pela enzima Dicer que cliva a molécula conduzindo à formação do miRNA maduro de cadeia dupla. Forma-se então o RISC por associação da Dicer, da proteína Ago 2 a outras proteínas ao qual se liga o miRNA, promovendo o silenciamento de genes a um nível pós-transcricional por interação com a região 3' não traduzida (UTR) do mRNA alvo. PACT: *protein kinase R-activating protein*. TRBP: *transactivating response RNA-binding protein* (Adaptado de Mohajeri et al., 2018).

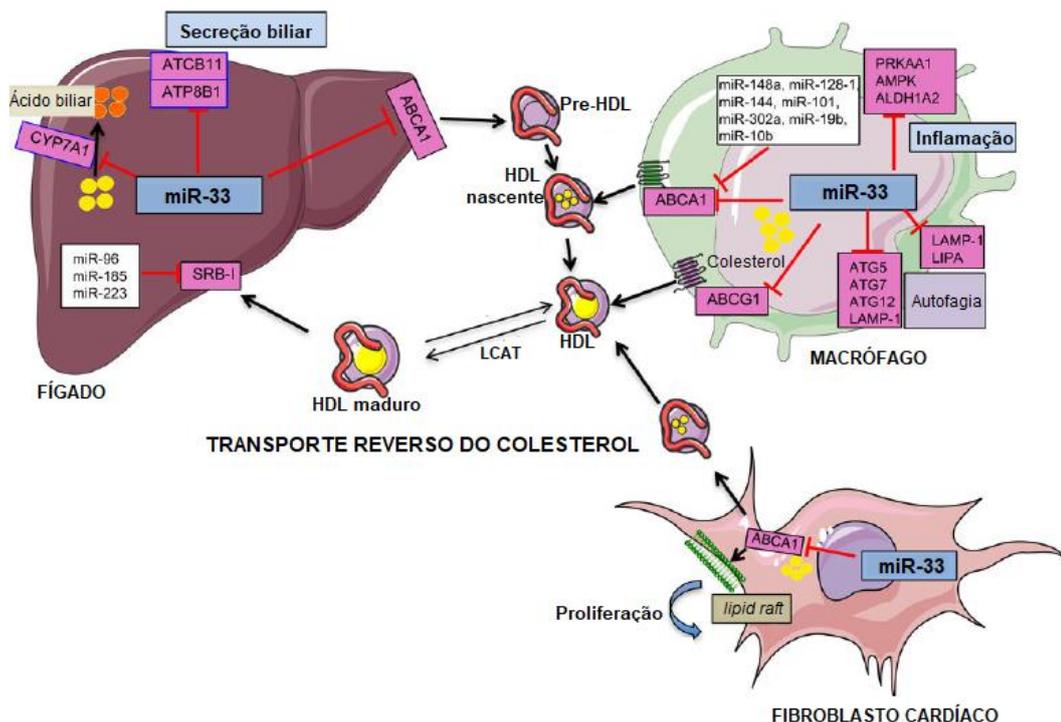
Estes pequenos transcritos de RNA conservados evolutivamente, controlam então a expressão gênica, pós-transcrição, atuando sobre o mRNA alvo na região 3' não traduzida (UTR) que, consoante o grau de emparelhamento, poderá resultar na degradação da molécula ou repressão da tradução (Laffont and Rayner, 2017; Mohajeri *et al.*, 2018; Ono, 2016). O emparelhamento entre múltiplos pares de bases permite que cada uma das mais de quinhentas sequências de miRNAs humanas controlem a expressão de numerosos mRNA alvo envolvidos em diversas vias biológicas e celulares (Aryal *et al.*, 2017; Mohajeri *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). Os miRNAs são libertados das células e transportados até aos seus tecidos alvo por meio de exossomas, proteínas como a Ago 2 e lipoproteínas, com destaque para a HDL (Feinberg and Moore, 2016; Mohajeri *et al.*, 2018; Ono, 2016).

### **miRNAs e o metabolismo das HDL**

O papel das HDL na manutenção da homeostase do colesterol, já discutido anteriormente, é de extrema importância, uma vez que, é por intermédio destas lipoproteínas que o excesso de colesterol dos tecidos periféricos é transportado para o fígado, para reutilização ou secreção para as fezes, processo conhecido por RCT. Ao mediar o efluxo de colesterol e ácidos biliares, o RCT reduz os níveis de c-LDL em circulação, fator relevante na minimização do risco cardiovascular (Aryal *et al.*, 2017; Laffont and Rayner, 2017; Zhang *et al.*, 2018). Durante a última década, os miRNAs surgiram como importantes reguladores do metabolismo das HDL, pelo seu papel na biogénese, efluxo de colesterol celular e secreção biliar (Aryal *et al.*, 2017; Rotlan *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018).

Entre os diferentes miRNAs identificados com um papel na homeostase do colesterol, a família miR-33 é aquela que mereceu maior atenção pela capacidade de regulação de genes envolvidos no efluxo de colesterol, metabolismo das HDL, oxidação de ácidos gordos e secreção de ácidos biliares (Sahebkar *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018). O miR-33 corresponde a um conjunto de dois pequenos RNAs não codificantes intrónicos, miR-33a e miR-33b, de sequência semelhante, codificados nos genes da *sterol regulatory element-binding proteins*, SREBP-2 e SREBP-1, dois dos principais fatores de transcrição responsáveis pela regulação do metabolismo lipídico (Aryal *et al.*, 2017; Laffont and Rayner, 2017; Zhang *et al.*, 2018). Mediante baixos níveis de esterol, o SREBP-2 é ativado conduzindo à indução de genes com papel na síntese e absorção de colesterol e do seu transcrito, o miR-33a (Zhang *et al.*, 2018). A família miR-33 ganhou interesse quando foi revelada a capacidade de modulação da expressão de ABCA1 e ABCG1 em hepatócitos e macrófagos de murganhos. Quando sobre-expresso a nível hepático, verificou-se uma diminuição de ABCA1 e ABCG1 e, conseqüentemente, uma redução dos níveis plasmáticos de HDL (Aryal *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2018). Em contraste, a

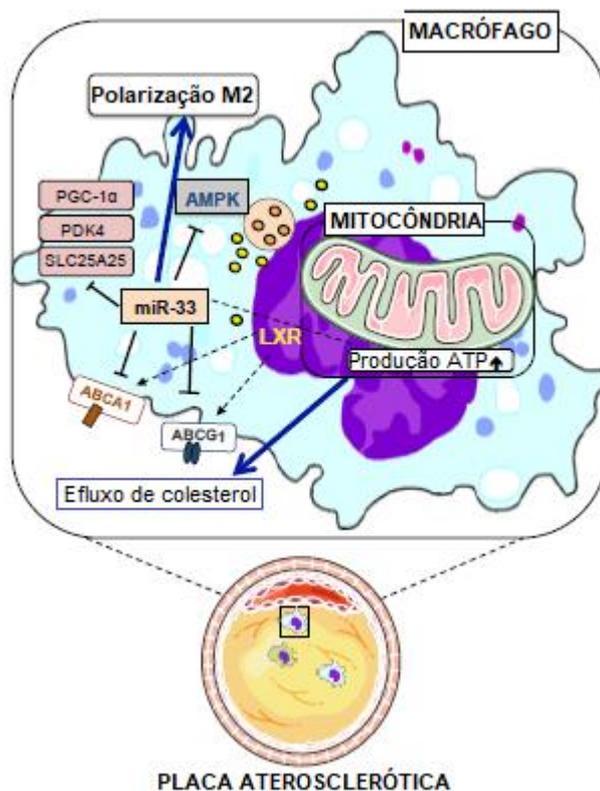
utilização de oligonucleótidos *antisense* de miR-33 resultou num aumento de HDL no plasma, através do aumento da expressão destes transportadores, que promovem o efluxo de colesterol para Apo A-I e HDL nascente (Figura 11) (Aryal *et al.*, 2017; Mohajeri *et al.*, 2018; Ono, 2016). Pelo facto de os roedores não apresentarem as duas isoformas de miR-33, apenas a equivalente ao miR-33a em humanos, estudos posteriores foram desenvolvidos em primatas não humanos numa tentativa de avaliar o papel de ambas as sequências no metabolismo de HDL (Aryal *et al.*, 2017; Ono, 2016; Rotlan *et al.*, 2016).



**Figura 11 – miRNAs e o metabolismo das HDL.** O ABCA1 tem um papel fundamental no processo de formação das HDL e regula o efluxo de colesterol de macrófagos. Este pode ser regulado por diferentes miRNAs, incluindo o miR-33. Este miRNA está envolvido em diferentes etapas do RCT pela capacidade de regulação de genes envolvidos na biogénese de HDL (*ABCA1*), efluxo de colesterol de tecidos periféricos, macrófagos e fibroblastos cardíacos (*ABCA1*, *ABCG1*), síntese (*CYP7A1*) e secreção de ácidos biliares (*ATCB11*, *ATP8B1*) no fígado. Além disso, controla a polarização de macrófagos ao regular a expressão de *AMPK*, por exemplo. O *ABCA1* é também regulado por outros miRNAs em diferentes tecidos incluindo *miR-148a*, *miR-144*, *miR-101*, *miR-128*, *miR-27a / b*, *miR-302a* e *miR-10b*. Os *SR-B1* no fígado são regulados por miRNAs, *miR-185*, *miR-223* e *miR-96*, recetor esse que permite a captação hepática de colesterol proveniente das HDL (Adaptado de Aryal *et al.*, 2017).

Terá sido também demonstrado um papel deste miRNA na regulação da biogénese mitocondrial nomeadamente na regulação da expressão da proteína quinase ativada por AMP (*AMPK*) e *peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha* (*PGC1-α*). O facto do miR-33 regular o *PGC1-α*, bem como outros fatores envolvidos na função mitocondrial como *pyruvate dehydrogenase kinase isozyme 4* (*PDK4*) e *solute carrier family 25* (*SLC25A25*), poderá ter impacto na respiração mitocondrial e, portanto, afetar a disponibilidade de energia sob a forma de ATP e o efluxo de colesterol pelo *ABCA1* (Figura 11) (Aryal *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018). Além da capacidade de regular o efluxo de colesterol

e síntese de HDL, foi também evidenciado um envolvimento do miR-33 na regulação da síntese e secreção de ácidos biliares, através do direcionamento de transportadores, cassete com capacidade de ligação ao ATP subfamília B, membro II (ABCB1 I), *aminophospholipid transporter, class I, type 8B, member 1* (ATP8B1) e enzima colesterol 7 $\alpha$ -hidroxilase (CYP7A1), permitindo a remoção do colesterol do corpo através de fezes (Aryal *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018).



**Figura 12 – Papel do miR-33 na regulação dos macrófagos.** O miR-33 controla diversas funções de macrófagos através da regulação da expressão de genes associados ao efluxo de colesterol (ABCA1 e ABCG1), biogênese mitocondrial PGC-1 $\alpha$ , PDK4 e SLC25A25) e polarização de macrófagos (AMPK) (Adaptado de Rotlan *et al.*, 2016).

Vários investigadores têm centrado os seus estudos na capacidade de oligonucleótidos anti-miR-33 afetarem o processo aterosclerótico, tendo sido também verificado uma diminuição do tamanho da placa aterosclerótica existindo, no entanto, controvérsias entre os resultados (Rotlan *et al.*, 2016). A possível ateroproteção induzida por esta abordagem terapêutica em estudo envolve, não só, um aumento dos níveis de HDL, mas também uma redução da progressão da aterosclerose em murinhos hipercolesterolêmicos por acúmulo de macrófagos M2 supressores da inflamação em placas ateroscleróticas. Este miRNA ao controlar a expressão de diferentes genes mitocondriais, PGC1- $\alpha$ , PDK4, SLC25A25 promove a biogênese mitocondrial, oxidação de ácidos gordos e produção de ATP em macrófagos (Figura 12) (Rotlan *et al.*, 2016; Sahebkar *et al.*, 2016). Os resultados dos diferentes estudos tornaram evidente que esta família de pequenas seqüências de RNA tem um papel fundamental

na regulação do metabolismo das HDL, RCT e mesmo na progressão da aterosclerose, tornando-se um dos miRNAs mais atraente ao desenvolvimento de fármacos no tratamento de dislipidemia e aterosclerose (Laffont and Rayner, 2017). Apesar de demonstrado que a inibição do miR-33 pode ser uma abordagem eficaz para aumentar os níveis de c-HDL no plasma, e até no controlo da doença aterosclerótica, estudos adicionais são necessários a fim de se conseguir uma melhor compreensão relativa a mecanismos subjacentes. Outra questão importante será averiguar a segurança do antagonismo de miR-33 a longo prazo, uma vez que têm sido documentados possíveis efeitos adversos como esteatose hepática, resistência à insulina, dislipidemia e obesidade (Aryal *et al.*, 2017; Laffont and Rayner, 2017; Rotlan *et al.*, 2016).

Para além do miR-33, verificou-se que outros miRNAs têm a capacidade de regular diferentes etapas do metabolismo das HDL, incluindo o efluxo do colesterol celular e a biogénese e captação de HDL, tal como o miR-758, miR-144, miR-26, miR-27a/b, miR302a, miR-148a, miR-128-1 e miR-19b. A inibição da expressão destes miRNAs em macrófagos resultou num aumento da expressão de ABCA1, permitindo o efluxo de colesterol para Apo A-I e aumento dos níveis de HDL no plasma. O miR-455, miR-125a, miR-185, miR-96 e miR-223 expressos a nível hepático, regulam a expressão do SR-BI afetando, desse modo, a captação de HDL no fígado (Figura 11) (Aryal *et al.*, 2017; Laffont and Rayner, 2017; Zhang *et al.*, 2018).

### **miRNAs e o metabolismo das LDL**

Apesar do papel dos miRNAs na regulação do metabolismo das HDL ter sido profundamente estudado por diferentes investigadores, a importância dos miRNAs na manutenção dos níveis plasmáticos de c-LDL, através da regulação a um nível pós-transcricional de genes envolvidos na secreção de VLDL, biossíntese de colesterol e LDLR, tem também, mais recentemente, sido alvo de estudo (Aryal *et al.*, 2017). Como referido anteriormente, são muitos os fatores de risco que podem contribuir para o desenvolvimento de placas ateroscleróticas, no entanto, os níveis aumentados de c-LDL apresenta-se como um dos mais relevantes. A razão do interesse em investigar o papel dos miRNAs na regulação do metabolismo das LDL prende-se então com o facto, destes se poderem tornar alvos terapêuticos promissores em indivíduos de risco cardiovascular elevado (Rotlan *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018).

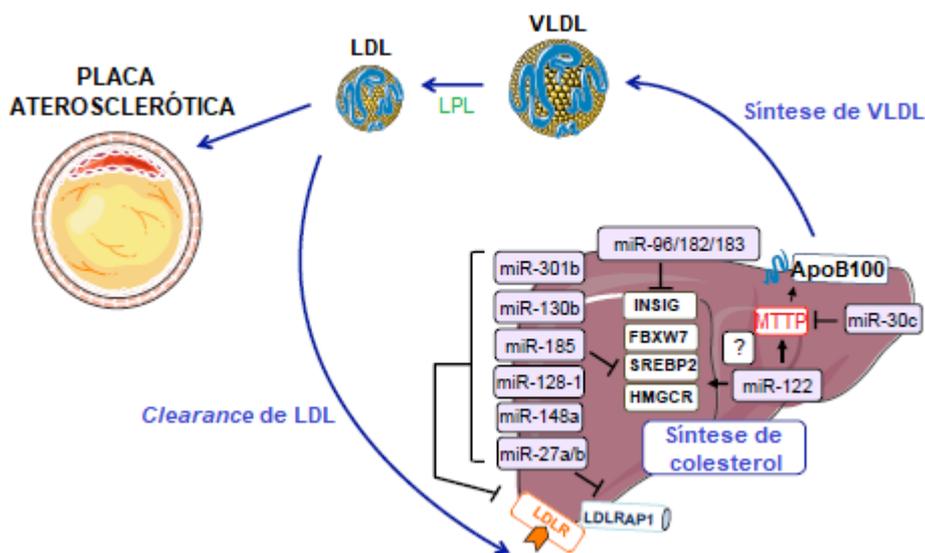
O primeiro miRNA em que foi evidenciada uma ação na regulação dos níveis de c-LDL foi o miR-122, facto esse observado em murganhos e primatas não humanos (Aryal *et al.*, 2017). Representando cerca de 70% dos miRNAs hepáticos, a sua inibição demonstrou reduzir

de forma significativa os níveis plasmáticos de LDL e VLDL em 30 a 45% (Laffont and Rayner, 2017; Rotlan *et al.*, 2016). Os mecanismos moleculares e os alvos de mRNA que medeiam a redução de lipoproteínas contendo Apo B não estão totalmente estabelecidos, no entanto, foi evidenciada uma ação indireta sobre HMG co-A redutase, MTTP, enzima necessária à síntese e secreção de VLDL, e também uma influência na síntese de ácidos gordos (Figura 13) (Rotlan *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018). A utilização de oligonucleótidos *antisense* de miR-122 poderia ser uma estratégia terapêutica promissora com base em diferentes estudos, no entanto, o facto do mecanismo de ação não estar totalmente clarificado, a discrepância entre resultados de investigações e o relato de ocorrência de esteatose hepática e carcinoma hepatocelular em roedores com deficiência em miR-122, reduziram o interesse para o desenvolvimento de inibidores deste miRNA no tratamento da dislipidémia (Aryal *et al.*, 2017; Goedeke *et al.*, 2016; Rotlan *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018).

Enquanto que o miR-122 foi associado a uma maior predisposição para ocorrência de dislipidémias, tendo sido investigado a potencial ação terapêutica do seu antagonismo, os níveis aumentados de miR-30c mostraram reduzir o teor plasmático de lípidos (Rotlan *et al.*, 2016). Este miRNA demonstrou induzir a degradação do mRNA que codifica a MTTP (Figura 13), reduzindo de uma forma significativa a secreção Apo B, essencial para a formação de VLDL e LDL (Momtazi *et al.*, 2018; Sodi *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018). O miR-30c inibe também a síntese hepática de lípidos, ao atuar sobre a lisofosfatidil glicerol aciltransferase I (LPGATI), uma enzima envolvida na síntese de fosfolípidos. Verificou-se que a expressão aumentada de miR-30c, por intermédio de lentivírus e miRNA *mimics*, reduziu de forma significativa os níveis de VLDL e LDL em circulação e formação de placa aterosclerótica. É importante ressaltar que a inibição de MTTP a um nível pós-transcricional e, portanto, da secreção de VLDL, pelo miR-30c não resultou em esteatose hepática ao contrário da ação do inibidor de miR-122, pelo que existe potencial para utilização na dislipidémia, nomeadamente na hipercolesterolemia homozigótica (Aryal *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018).

Sodi *et al.* estudaram a possibilidade do miR-30c estar associado a biomarcadores da DCV, nomeadamente lipoproteínas e colesterol. Verificou-se que à medida que o colesterol total e c-LDL aumentam, ocorre também aumento dos níveis de miR-30c talvez por meio de um mecanismo de compensação de modo a reduzir a secreção de lípidos e lipoproteínas contendo Apo B quando os níveis se encontram elevados. Assim, foi evidenciada uma possível ação do miR-30c no tratamento da dislipidémia e da aterosclerose e biomarcador da doença. Ao ser verificado o transporte deste miRNA tanto em exossomas como em HDL, poderá ser possível a sua utilização terapêutica por intermédio de estratégias que aumentem os níveis de c-HDL ou manipulação de exossomas. Este grupo de investigadores demonstrou também o

efeito da terapia com estatinas no miR-30c circulante. Foi verificado que a pravastatina aumentou significativamente os níveis circulantes de miR-30c, ao contrário da rosuvastatina, no entanto, o tempo de utilização das duas foi diferente (um ano com pravastatina e oito semanas com rosuvastatina) o que poderá também indicar que a ação sobre este miRNA só se verifica passado determinado período. Esta pesquisa aumentou a lista dos efeitos pleiotrópicos das estatinas uma vez o miR-30c tem um efeito protetor a nível cardiovascular. No entanto, são necessários mais estudos, com maior número de amostras e diferentes grupos populacionais, a fim de retirar mais conclusões, nomeadamente, ao mecanismo pelo qual as estatinas alteram os níveis circulantes deste miRNA (Sodi *et al.*, 2017).



**Figura 13 – Regulação de miRNAs no metabolismo do c-LDL.** O fígado tem um papel fundamental no metabolismo de c-LDL ao regular a secreção de VLDL e os níveis plasmáticos de LDL através dos LDLR. A secreção de VLDL é controlada pela MTP, cuja expressão é regulada pelo miR-30c e miR-122. O número de LDLR e LDLRAP1 são regulados por diferentes miRNAs tal como o miR-301b, miR-130b, miR-185, miR-128-1, miR-148a e miR-27a / b. O miR-96/182/183 é um miRNA policistronico que se verificou ser regulado a nível hepático mediante tratamento com estatinas e ezetimiba em murganhos (Adaptado de Rotlan *et al.*, 2016).

Tal como mencionado anteriormente, defeitos nos LDLR apresentam-se como a causa mais provável para a ocorrência de hipercolesterolemia familiar, caracterizada por níveis de c-LDL muito elevados e DCV prematura (Momtazi *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). Diferentes estudos têm identificado vários miRNAs envolvidos no controlo da expressão de LDLR hepáticos, tal como o miR-27a/b, miR-128-1, miR-130b, miR-148a, miR-185, miR-199a e miR-301 (Figura 13). No entanto, apenas o miR-128-1, miR-148a e miR-185 demonstraram controlar os níveis plasmáticos de c-LDL *in vivo*, apesar de serem necessários estudos a longo prazo (Goedeke *et al.*, 2016; Rotlan *et al.*, 2016; Momtazi *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). O miR-148a revelou controlar a expressão de LDLR no fígado, mas também outros genes envolvidos no metabolismo lipídico, ABCA1, PGCI- $\alpha$ , AMPK e gene I induzido pela insulina

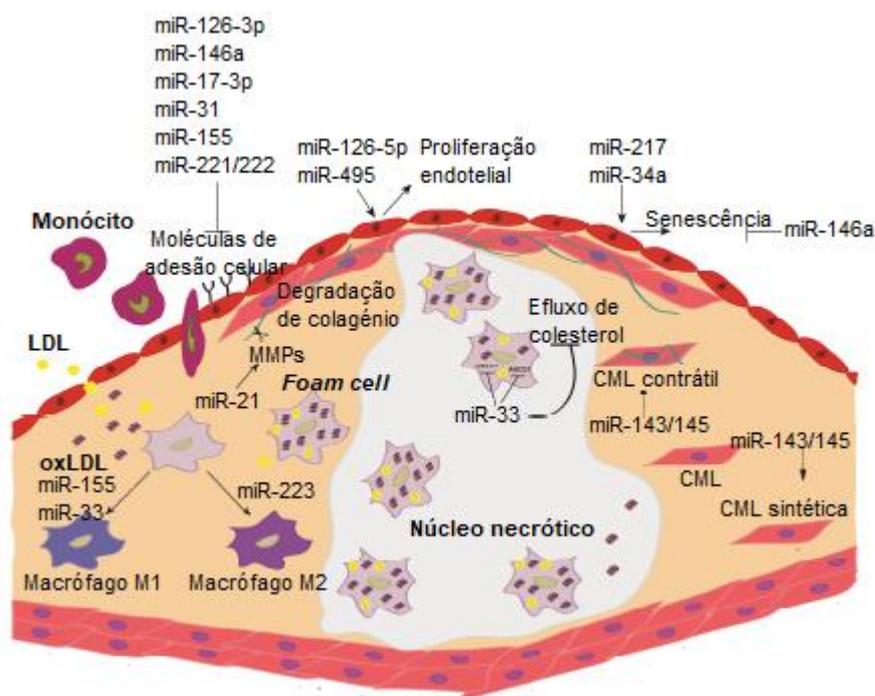
(INSIG1). Assim, o antagonismo deste miRNA permite diminuir os níveis circulantes de c-LDL e aumentar concomitantemente o c-HDL, ao aumentar a expressão hepática de ABCA1, demonstrando potencial terapêutico na melhoria da relação c-LDL/c-HDL, fator preponderante para o risco cardiovascular (Aryal *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018). O miR-128-1, de modo semelhante ao miR-148a, atua também sobre a região 3'UTR dos genes que codificam o LDLR e o ABCA1, apresentando-se como um importante regulador do metabolismo lipídico (Zhang *et al.*, 2018). Com o antagonismo deste miRNA, conseguiu-se também uma melhoria no controlo dos níveis de glucose e sensibilidade à insulina, ao aumentar a expressão do seu recetor, demonstrando assim, ser uma abordagem terapêutica interessante para a síndrome metabólica (Aryal *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018). A inibição da expressão do miR-185 foi também associada a níveis significativamente mais baixos de c-LDL e progressão lenta da placa aterosclerótica (Goedeke *et al.*, 2016; Momtazi *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018).

Os fatores de transcrição SREBP regulam a expressão de LDLR hepáticos e também controlam a transcrição da maioria dos genes envolvidos na síntese de colesterol e ácidos gordos. A expressão e ativação do SREBP2 é promovida mediante condições de depleção de colesterol e medeia a regulação de LDLR em pacientes tratados com estatinas. Um grupo de investigadores identificou um miRNA policistrónico, o miR-96/182/183, regulado no fígado de murganhos sob tratamento com estatinas e ezetimiba (Figura 13) (Zhang *et al.*, 2018).

### **miRNAS no processo aterosclerótico**

No início do processo aterosclerótico, as células endoteliais são ativadas por citocinas pró-inflamatórias e oxLDL conduzindo ao recrutamento de células imunitárias. A ação de seletina E e P, ICAM-1, VCAM-1, quimiocinas e citocinas conduz à adesão de leucócitos ao endotélio contribuindo para o início da patogénese do processo aterosclerótico. O miR-126-3p, um dos miRNAs com maior expressão em células endoteliais, inibe a expressão de VCAM-1 interferindo na adesão *in vitro* de leucócitos a células endoteliais (Figura 14). O miR-146a, miR-17-3p, miR-31, miR-155 e miR-221/222 também interferem com a ação das moléculas que participam na adesão, condicionando-a. Na proliferação endotelial encontrou-se também evidência da ação de miRNAs, sendo o miR-126-5p um exemplo, com capacidade de melhorar a reendotelização após lesão vascular. Também o miR-495 demonstrou participar na proliferação de células do endotélio, no entanto, são necessários estudos adicionais para elucidar o seu papel na aterogénese. O miR-217 demonstrou induzir a senescência das células endoteliais e diminuir a angiogénese, enquanto que a sua inibição reduziu a senescência e favoreceu a angiogénese. O aumento de ROS e senescência promovem o envelhecimento celular, tendo-se verificado nessa situação uma diminuição da expressão de miR-146 em células

endoteliais, miRNA que regula de forma negativa a expressão da principal isoforma de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidase presente no endotélio, a NADPH oxidase 4. Deste modo, o miR-146 poderá surgir como uma ferramenta terapêutica útil em distúrbios vasculares, regulando a senescência (Laffont and Rayner, 2017).



**Figura 14 – Principais miRNAs envolvidos nos mecanismos celulares que impulsionam a aterosclerose.** A adesão celular é uma etapa fundamental para o desenvolvimento do processo aterosclerótico, sendo que determinados miRNAs poderão condicionar ao inibir a ação de moléculas de adesão (miR-126-3p, miR-146a, miR-17-3p, miR-31, miR-155, miR-221/222). Os miRNAs podem também afetar a proliferação (miR-126-5p, miR-495), senescência do endotélio (miR-217, miR-34a, miR-146a) e a biologia de macrófagos afetando a evolução de placas pela capacidade de regulação da polarização destas células (miR-155, miR-33, miR-223). O fenótipo contrátil/sintético das CML é condicionado pela ação de miRNAs (miR-143/145) e também a síntese/degradação de colágeno, proteína fundamental na espessura da capa fibrosa (miR-21) (Adaptado de Laffont and Rayner, 2017).

Os macrófagos têm um papel preponderante na fisiopatologia da aterosclerose, tanto pela manutenção da homeostase de lípidos na parede dos vasos, como pela ação sobre o processo inflamatório associado. Consoante o ambiente em que se encontram, os macrófagos poderão apresentar diferentes fenótipos, nomeadamente o fenótipo pró-inflamatório clássico, M1, os predominantes na progressão do processo aterosclerótico, e o fenótipo M2 anti-inflamatório (Feinberg and Moore, 2016; Laffont and Rayner, 2017). Tem sido observado um envolvimento de miRNAs na polarização de macrófagos regulando assim a sua capacidade inflamatória podendo, desse modo, afetar a evolução de placas ateroscleróticas. Por exemplo, o miR-223 demonstrou apresentar um efeito supressor na ativação de macrófagos pró-inflamatórios M1, sendo que a deficiência deste miRNA em macrófagos demonstrou um aumento de biomarcadores de polarização M1 e diminuição em M2 (Figura 14) (Laffont and

Rayner, 2017). Igualmente, o miR-33, que desempenha um papel fundamental na regulação do efluxo de colesterol, revelou uma ação neste campo, tendo-se verificado em murghanos hipercolesterolémicos que a inibição deste resultou na acumulação de macrófagos M2 supressores da inflamação, o que reduziu a progressão da aterosclerose. O miR-155 apresenta também capacidade de reprogramar macrófagos do fenótipo M2 para M1, podendo potenciar a progressão da placa aterosclerótica (Feinberg and Moore, 2016; Laffont and Rayner, 2017).

As CML são fundamentais para a manutenção da função da parede vascular sendo que o seu fenótipo tem uma grande influência no desenvolvimento da lesão aterosclerótica. Numa situação normal, estas apresentam um fenótipo diferenciado e contrátil, no entanto, mediante lesão vascular, as CML passam a exibir um fenótipo sintético apresentando uma maior capacidade migratória, proliferativa e inflamatória e também uma maior proporção de recetores de lipoproteínas. O miR-143/145, expresso em grande percentagem nas CML, demonstrou regular o fenótipo destas, ao regular a sua função contrátil (Figura 14). Todavia, o seu papel na aterosclerose é ainda discutível (Feinberg and Moore, 2016; Laffont and Rayner, 2017).

Com a progressão do fenómeno aterosclerótico, a placa aterosclerótica torna-se cada vez mais suscetível à rutura pelo elevado teor em células inflamatórias, grande núcleo necrótico e uma capa fibrosa fina e frágil. A espessura da capa fibrosa está muito dependente da síntese e degradação de colagénio sendo que a principal fonte desta proteína são as CML, cujo fenótipo é regulado em parte pela ação de miRNAs. A síntese de colagénio e fibrose pode também ser regulada pelo miR-133a, miR-145, miR-192, miR-21 e miR-29b. Em placas ateroscleróticas, os macrófagos por ação de miRNAs como o miR-21, têm a capacidade de sintetizar metaloproteinasas de matriz (MMPs) que medeiam a degradação de colesterol afetando a fragilidade da capa fibrosa (Figura 14) (Laffont and Rayner, 2017).

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A aterosclerose é considerada uma das principais causas de DCV, doença que é responsável por mais de 17 milhões de mortes ao ano em todo o mundo, prevendo-se que aumente para um valor superior a 23 milhões até 2030 (Yu *et al.*, 2018). Foi demonstrado ao longo dos anos que a aterosclerose não é uma consequência inevitável do envelhecimento, mas sim um processo inflamatório que conduz à doença arterial coronária, insuficiência cardíaca congestiva, AVC e doença arterial periférica (Bertrand and Tardif, 2016).

A adesão a um estilo de vida saudável, apesar de nem sempre ser suficiente, é fundamental na prevenção de eventos cardiovasculares. Existem inúmeros fatores de risco preponderantes ao desenvolvimento da aterosclerose, no entanto, a hipercolesterolemia

destaca-se com um dos mais importantes, sendo a sua progressão acelerada pela associação à hipertensão, à diabetes *mellitus* e ao tabagismo.

No campo preventivo, o papel do farmacêutico é de grande importância ao participar na educação do doente, interpretar possíveis interações entre fármacos e promover o uso racional do medicamento. Atualmente, muitas farmácias já aderiram ao serviço farmacêutico Preparação Individualizada da Medicação, o que permite ao farmacêutico intervir de uma forma mais vinculada na saúde do doente, educando-o a tomar o medicamento certo, à hora certa.

As estatinas apresentam-se como a principal estratégia na redução de lípidos no sangue, com um importante papel na prevenção primária e secundária da DCV decorrente dos seus efeitos pleiotrópicos (Yu *et al.*, 2018). No entanto, o risco cardiovascular não é totalmente eliminado, muito pela variabilidade da resposta à terapêutica, especialmente quando são prescritas baixas doses (Zambrano and Salazar, 2018). A mialgia apresenta-se como um efeito adverso frequente, que conduz muitas vezes à falta de adesão à terapêutica, podendo ser contrariado pela troca de estatina ou pelo uso de suplementos, tendo o farmacêutico, uma vez mais, um papel fundamental tanto no aconselhamento como no encaminhamento para o médico.

A procura de novas alternativas terapêuticas e de controlo abriu a descoberta da possível ação de miRNAs como biomarcadores numa ampla gama de condições cardiovasculares, inclusive a aterosclerose, pela sua estabilidade e fácil deteção em fluidos circulantes, já investigado anteriormente para outras patologias (Laffont and Rayner, 2017). Embora esteja bem documentada a capacidade de miRNAs regularem o metabolismo do colesterol, existem ainda muitos obstáculos no desenvolvimento e utilização de abordagens terapêuticas que explorem a sua inibição ou mimetização. A exigência de modificações químicas, efeitos adversos, toxicidade e problemas na entrega até ao alvo fazem da sua evolução para estudos clínicos um grande desafio (Zhang *et al.*, 2018). Tendo em consideração que na maioria dos estudos em animais os efeitos terapêuticos dos miRNAs foram estudados nos tecidos alvos de interesse, poderão ter sido omitidos potenciais efeitos *off-target* (Laffont and Rayner, 2017). Com o surgimento de novas ferramentas para identificação de alvos e averiguação do impacto de interações miRNA-alvo individuais, o desenvolvimento de novas abordagens envolvendo a modulação da biologia de miRNAs poderá ser facilitada (Zhang *et al.*, 2018).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arora S, Patra SK, Saini R. HDL – A molecule with a multi-faceted role in coronary artery disease. *Clinica Chimica Acta*, 452, 66-81, 2016.

Aryal B, Singh AK, Rotlan N, Price N, Fernandez-Hernando C. MicroRNAs and lipid metabolism. *Current Opinion*, 28, 273-280, 2017.

Bertrand MJ and Tardif JC. Inflammation and beyond: New directions and emerging drugs for treating atherosclerosis. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 22, 1-26, 2016.

Chistiakov DA, Melnichenko AA, Myasoedova VM, Grechko AV, Orekhov AN. Mechanisms of foam cell formation in atherosclerosis. *Journal of Molecular Medicine*, 95, 1153-1165, 2017.

Defesche JC, Gidding SS, Harada-Shiba M, Hegele RA, Santos RD, Wierzbicki AS. Familial hypercholesterolaemia. *Nature Reviews – Disease Primers*, 3, 17093 (2017).

Dominiczak MH. Lipoproteins and Lipid Transport. *Medical Biochemistry*, 3<sup>rd</sup> Edt, 219-236, 2009.

Feinberg MW, Moore KJ. MicroRNA Regulation of Atherosclerosis. *Circulation Research Compendium on Atherosclerosis*, 118, 703-720, 2016.

Freeman MW. Lipid Metabolism and Coronary Artery Disease. *Principles of Molecular Medicine*, 2<sup>nd</sup>Edt, 130-137, 2006.

Gisterå A, Hansson GK. The immunology of atherosclerosis. *Nature reviews Nephrology*, 13, 368-380, 2017.

Goedeke L, Wagschal A, Fernández-Hernando C, Näär AM. miRNA regulation of LDL-cholesterol metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1861, 2047-2052, 2016.

Hartgers ML, Ray KK, Hovingh GK. New Approaches in Detection and Treatment of Familial Hypercholesterolemia. *Current Cardiology Reports*, 17, 109 (2015).

Laffont B, Rayner KJ. MicroRNAs in the pathobiology of atherosclerosis. *Canadian Journal of Cardiology*, 33, 313-324, 2017.

Malloy MJ, Kane JP. Agents used in Dyslipidemia. *Basic & Clinical Pharmacology*, 12<sup>th</sup>Edt, 619-632, 2012.

Melendez QM, Krishnaji ST, Wooten CJ, Lopez D. Hypercholesterolemia: The role of PCSK9. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 625, 39-53, 2017.

Mohajeri M, Banach M, Atkin SL, Butler AE, Ruscica M, Watts GF, Sahebkar A. MicroRNAs: Novel Molecular Targets and Response Modulators of Statin Therapy. *Trends in Pharmacological Sciences*, 39, 967-981, 2018.

Momtazi AA, Banach M, Pirro M, Stein EA, Sahebkar A. MicroRNAs: New Therapeutic Targets for Familial Hypercholesterolemia? *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 54, 224-233, 2018.

Norma DGS n.º 005/2013 de 19/03/2013 atualizada 21/01/2015 – Avaliação do Risco Cardiovascular SCORE (*Systematic Coronary Risk Evaluation*). Direção-Geral de Saúde, Ministério da Saúde, Lisboa.

Norma DGS n.º 019/2011 de 28/09/2011 atualizada a 11/05/2017 – Abordagem Terapêutica das Dislipidemias no Adulto. Direção-Geral de Saúde, Ministério da Saúde, Lisboa.

Ono K. Functions of microRNA-33a/b and microRNA therapeutics. *Journal of Cardiology*, 67, 28-33, 2016.

Rotlan N, Price B, Pati P, Goedeke L, Fernández-Hernando C. microRNAs in lipoprotein metabolism and cardiometabolic disorders. *Atherosclerosis*, 246, 352-360, 2016.

Sahebkar A, Maffioli P, Banach M, Derosa G. MicroRNA-33 Inhibition: A Potential Adjunct to Statin Therapy? *Current Vascular Pharmacology*, 14, 321-322, 2016.

Silva, PM. Metabolismo lipídico e diagnóstico das dislipidemias primárias. *Revista Fatores de Risco*, 38, 10-25, 2015.

Sodi R, Eastwood J, Caslake M, Packard CJ, Denby L. Relationship between circulating microRNA-30c with total- and LDL-cholesterol, their circulatory transportation and effect of statins. *Clinica Chimica Acta*, 466, 13-19, 2017.

Wang HH, Garruti G, Liu M, Portincasa P, Wang DQH. Cholesterol and Lipoprotein Metabolism and Atherosclerosis: Recent Advances in Reverse Cholesterol Transport. *Annals of Hepatology*, 16, 27-42, 2017.

Wu MY, Li CJ, Hou MF, Chu PY. New Insights into the Role of Inflammation in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 2034 (2017).

Yu XH, Zhang DW, Zheng XL, Tang CK. Cholesterol transport system: An integrated cholesterol transport model involved in atherosclerosis. *Progress in Lipid Research*, 73, 65-91, 2018.

Zambrano T, Hirata RDC, Hirata MH, Cerda A, Salazar LA. Statins differentially modulate microRNAs expression in peripheral cells of hyperlipidemic subjects: A pilot study. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 117, 55-61, 2018.

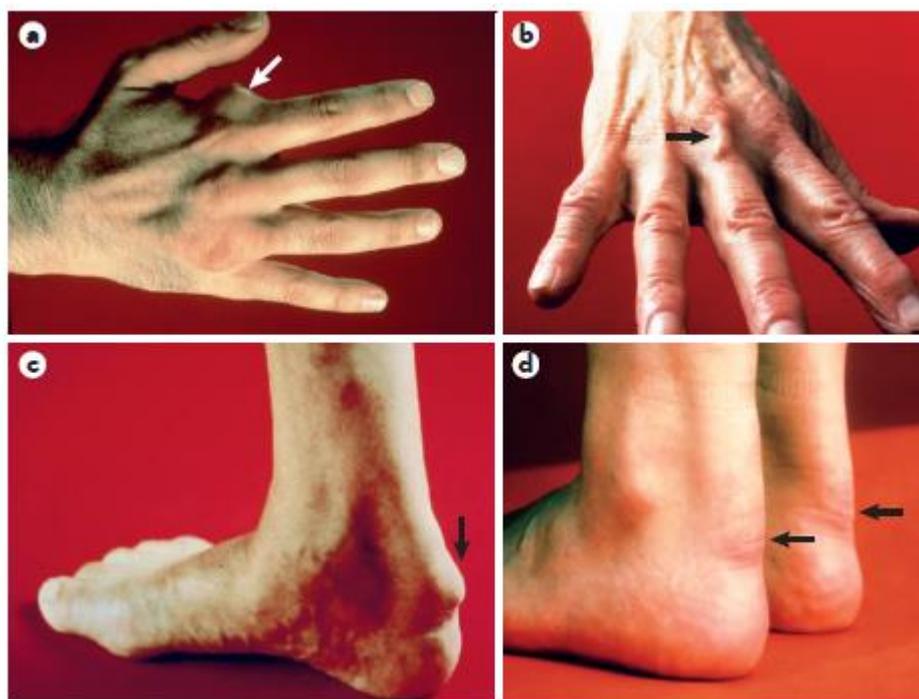
Zambrano T, Salazar LA. MicroRNAs and response to statins in patients with hypercholesterolemia: from basic research to precision medicine. *Pharmacogenomics*, 19, 748-751, 2018.

Zárate A, Manuel-Apolinar L, Saucedo R, Hernández-Valencia M, Basurto L. Hypercholesterolemia As a Risk Factor for Cardiovascular Disease: Current Controversial Therapeutic Management. *Archives of Medical Research*, 47, 491-495, 2016.

Zhang X, Price NL, Fernández-Hernando C. Non-coding RNAs in lipid metabolism. *Vascular Pharmacology*, 114, 93-102, 2018.

## ANEXOS

**Anexo I** – Manifestações clínicas da hipercolesterolemia familiar heterozigótica (Defesche et al., 2017)

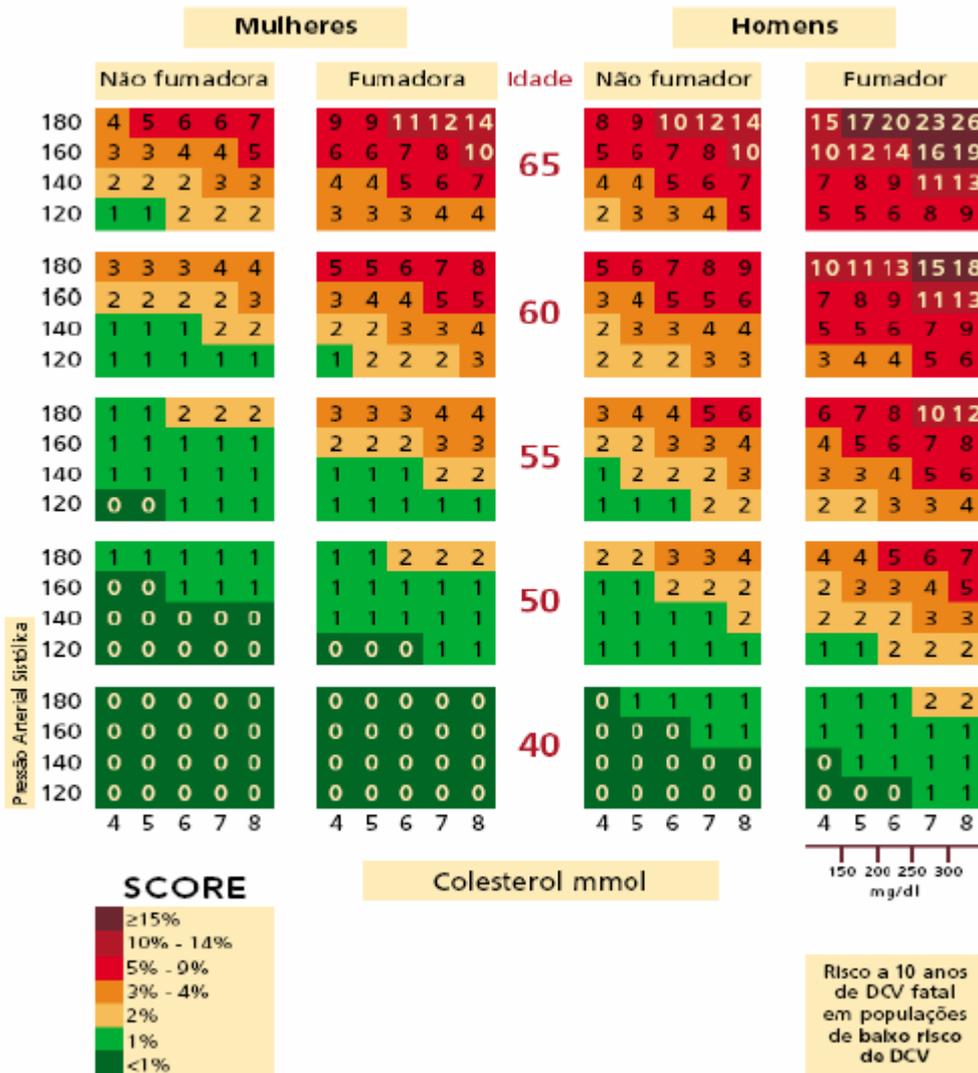


**1) Xantomas tendinosos nas mãos e tendão de Aquiles em pacientes com hipercolesterolemia familiar heterozigótica.** A extensão dos xantomas pode variar de grave (a) a leve (b) e palpável mas não visível. Xantomas no tendão de Aquiles podem ser proeminentes (c) ou presentes como um alargamento geral do tendão (d).

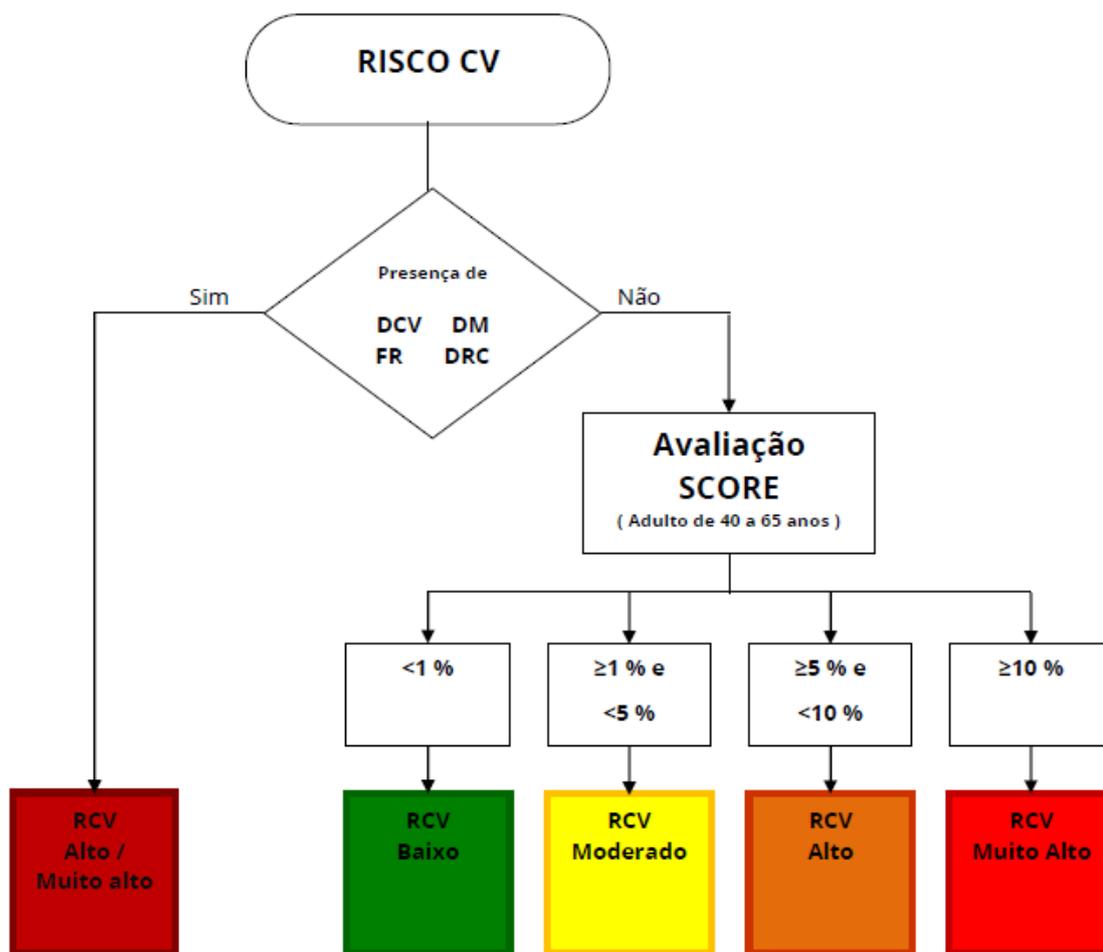


**2) Arcus cornealis e xantelasma em pacientes com hipercolesterolemia familiar heterozigótica.** O *arcus cornealis* é formado por uma deposição de lipídios na córnea. Essa deposição, inicialmente de estrutura em forma de foixe, na parte inferior ou superior da córnea (a) e que se expande ao longo dos anos (b), circunscrevendo a córnea inteira (c). Xantelasma (depósitos de lipídios nas pálpebras superiores e inferiores) tornam-se também mais severos com a idade. Em idade mais jovem podem ser modestas, começando na terceira década de vida (d) e tornando-se mais pronunciadas com o envelhecimento (e).

**Anexo 2 – Tabela de risco cardiovascular para adultos com idade igual ou superior a 40 anos e igual ou inferior a 65 anos (Norma DGS n.º 005/2013)**



### Anexo 3 – Algoritmo clínico do risco cardiovascular (Norma DGS n.º 005/2013)



DCV - Doença cardiovascular (enfarte do miocárdio, síndrome coronário agudo, revascularização coronária ou outro procedimento de revascularização arterial, acidente vascular cerebral isquémico, doença arterial periférica)

DM - Diabetes mellitus tipo 2 ou tipo 1, com um ou mais fatores de risco cardiovascular e/ou lesão dos órgãos -alvo (tal como microalbuminúria)

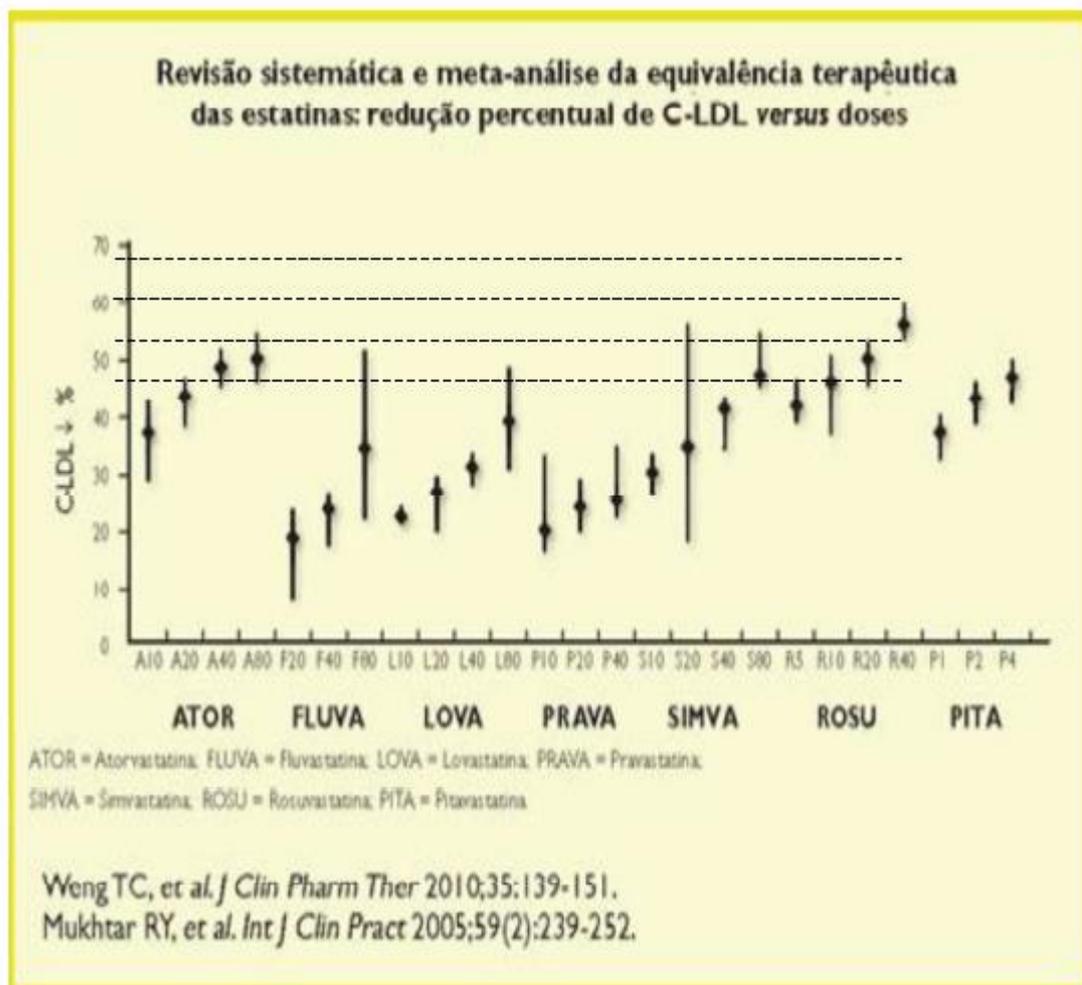
FR - Fatores de risco vascular isolados, muito elevados, como sejam hipertensão arterial grave (de grau 3) ou dislipidemia familiar

DRC - Doença renal crónica moderada a grave (taxa de filtração glomerular inferior a 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>).

**Anexo 4 – Instrumento de Auditoria Clínica da Norma “Avaliação do Risco Cardiovascular SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation) (Norma DGS n.º 005/2013)**

Instrumento de Auditoria Clínica da Norma “Avaliação do Risco Cardiovascular SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation)”				
Unidade: .....				
Data: / /		Equipa Auditora:		
<b>1: Avaliação do risco cardiovascular</b>				
CRITÉRIOS	SIM	NÃO	N/A	EVIDÊNCIA/FONTE
Existe evidência de que o utente com idade compreendida entre os 40 e 65 anos é incluído na avaliação do risco cardiovascular				
Existe evidência de que na avaliação do risco cardiovascular é utilizada o SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation)				
Existe evidência de que a avaliação do risco cardiovascular é registada no processo clínico				
<b>Sub-Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	
<b>ÍNDICE CONFORMIDADE</b>	<b>0%</b>			
<b>A: Risco cardiovascular muito alto</b>				
CRITÉRIOS	SIM	NÃO	N/A	EVIDÊNCIA/FONTE
Existe evidência de que o utente com doença cardiovascular (enfarte do miocárdio, síndrome coronária aguda, revascularização coronária ou outro procedimento de revascularização arterial, acidente vascular cerebral isquémico, doença arterial periférica) é avaliado com risco cardiovascular muito elevado, não sendo necessária a utilização do SCORE				
Existe evidência de que o utente com diabetes tipo 2 ou tipo 1 com um ou mais fatores de risco cardiovascular e/ou lesão dos órgãos-alvo (ex: microalbuminúria: 30-300 mg/24h) é avaliado com risco cardiovascular muito alto, não sendo necessária a utilização do SCORE				
Existe evidência de que o utente com doença renal crónica grave (taxa de filtração glomerular (TFG) inferior a 30 ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) é avaliado com risco cardiovascular muito alto, não sendo necessária a utilização do SCORE				
Existe evidência de que o utente é avaliado com risco cardiovascular muito alto quando a avaliação SCORE é ≥ 10%				
<b>Sub-Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	
<b>ÍNDICE CONFORMIDADE</b>	<b>0%</b>			
<b>B: Risco cardiovascular alto</b>				
CRITÉRIOS	SIM	NÃO	N/A	EVIDÊNCIA/FONTE
Existe evidência de que o utente com fatores de risco vascular isolados, muito elevados (ex: hipertensão arterial grave (grau 3) ou dislipidemia familiar) é avaliado com risco cardiovascular alto, não sendo necessária a utilização do SCORE				
Existe evidência de que o utente com diabetes tipo 2 ou tipo 1 sem outros fatores de risco cardiovascular ou lesão de órgão-alvo é avaliado com risco cardiovascular alto, não sendo necessária a utilização do SCORE				
Existe evidência de que o utente é avaliado com risco cardiovascular alto quando a avaliação SCORE é ≥ 5% e < 10%				
<b>Sub-Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	
<b>ÍNDICE CONFORMIDADE</b>	<b>0%</b>			
<b>C: Risco cardiovascular moderado</b>				
CRITÉRIOS	SIM	NÃO	N/A	EVIDÊNCIA/FONTE
Existe evidência de que o utente é avaliado com risco cardiovascular moderado quando a avaliação SCORE é ≥ 1% e < 5%				
<b>Sub-Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	
<b>ÍNDICE CONFORMIDADE</b>	<b>0%</b>			
<b>D: Risco cardiovascular baixo</b>				
CRITÉRIOS	SIM	NÃO	N/A	EVIDÊNCIA/FONTE
Existe evidência de que o utente é avaliado com risco cardiovascular baixo quando a avaliação SCORE é < 1%				
<b>Sub-Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	
<b>ÍNDICE CONFORMIDADE</b>	<b>0%</b>			

**Anexo 5 – Equivalência terapêutica das diferentes estatinas: redução percentual de c-LDL versus dose (exemplo: S10 = sinvastatina na dose de 10 mg) (Norma DGS n.º 019/2011)**



## **CAPÍTULO II**

### **Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária**

Farmácia Santa Cristina

Orientado pela Dra. Maria do Rosário Pereira de Carvalho

## **ABREVIATURAS**

**AINEs** – Anti-inflamatórios não esteroides

**DCI** – Designação comum internacional

**IMC** – Índice de massa corporal

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MNSRM** – Medicamento não sujeito a receita médica

**MSRM** – Medicamento sujeito a receita médica

**SWOT** – *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

## RESUMO

O plano curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) culmina com a realização de um estágio curricular em Farmácia Comunitária, local onde o farmacêutico assume um papel preponderante na comunidade.

Assim sendo, durante quatro meses integrei a equipa da Farmácia Santa Cristina em Condeixa-a-Nova, onde apliquei conhecimentos das mais variadas unidades curriculares do MICF e adquiri novas competências essenciais para o meu crescimento enquanto pessoa e profissional.

O presente relatório apresenta-se sob a forma de análise SWOT (*Strengths, Weakness, Opportunities e Threats*) onde são destacados os pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças vivenciados ao longo do período de estágio, bem como uma avaliação à frequência e adequação do plano de estudos do MICF ao futuro profissional.

**Palavras-chave:** Análise SWOT, Estágio, Farmácia Comunitária.

## ABSTRACT

The study plan of the Integrated Master in Pharmaceutical Sciences (MICF) ends with the achievement of a curricular internship in Community Pharmacy, where the pharmacist takes a very important role in the community.

Therefore, for four months I joined the team of Pharmacy Santa Cristina in Condeixa-a-Nova, where I applied knowledge acquired during college and where I acquired new skills essential for my growth as a person and professional.

This report is written in the form of SWOT analysis which highlights the strengths, weaknesses, opportunities and threats experienced during the internship. An assessment of frequency and suitability of MICF study plan for the professional future is also made.

**Keywords:** SWOT Analysis, Internship, Community Pharmacy.

## **INTRODUÇÃO**

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) tem como parte integrante do seu plano de estudos um estágio curricular em Farmácia Comunitária que permite interligar e aplicar os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo dos quatro anos, à realidade da atividade profissional.

O papel do farmacêutico comunitário na sociedade é de extrema importância, contribuindo para uma melhoria da saúde pública, ao promover o uso racional do medicamento e uma correta adesão à terapêutica, minimizando os riscos do uso dos medicamentos e aumentando a qualidade de vida e a saúde do doente. A principal responsabilidade é a saúde e o bem-estar do doente, promovendo um tratamento com qualidade, eficácia e segurança (Santos *et al.*, 2009).

O presente relatório diz respeito ao estágio realizado na Farmácia Santa Cristina, situada no concelho de Condeixa-a-Nova, sob orientação da Dra. Maria do Rosário Pereira de Carvalho. Durante os cerca de quatro meses de estágio, pude colocar em prática conhecimentos adquiridos em diversas unidades curriculares do MICF, adquirindo uma verdadeira experiência daquilo que é a Farmácia Comunitária. Tive oportunidade de experienciar todo o circuito do medicamento, desde dar entrada de encomendas de diferentes tipos de fornecedores, proceder à sua arrumação tanto no *robot* como elaboração de lineares e atendimento ao balcão. Tive também a oportunidade de prestar diferentes serviços farmacêuticos essenciais, como medição da pressão arterial e parâmetros bioquímicos, bem como conferir *stocks* e validades de produtos, fator relevante na gestão da farmácia. Mensalmente, fui responsável pela realização de Rastreios Cardiovasculares, onde além da medição de parâmetros bioquímicos, pressão arterial e medição do índice de massa corporal (IMC), realizei questionários aos utentes da Farmácia Santa Cristina com o intuito de conhecer o seu estilo de vida e risco cardiovascular.

O relatório encontra-se organizado segundo as Normas Orientadoras da Unidade Curricular “Estágio” 2018/2019, apresentando-se sob a forma de análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*) fazendo uma avaliação de todo o meu estágio, tendo em consideração todos os anos de aprendizagem do MICF e a sua adequação à realidade da Farmácia Comunitária.

## **FARMÁCIA SANTA CRISTINA**

A Farmácia Santa Cristina, situada em Condeixa-a-Nova, é uma farmácia relativamente recente, inaugurada a 22 de julho de 2018, pertencente ao grupo Salrifarma, do qual fazem parte outras duas farmácias – Farmácia São Tomé e Farmácia São Martinho – e também uma

parafarmácia – Anobrafarma, localizada no mesmo concelho. Esta é uma farmácia que apresenta um vasto leque de serviços farmacêuticos, desde Consultas de Nutrição e Podologia, Acupuntura, Fitoterapia, Administração de Injetáveis, Medição de Parâmetros Bioquímicos e Pressão Arterial, Preparação Individualizada da Medicação e Diagnóstico diferencial de infeções, permitindo distinguir infeções bacterianas de virais. A Farmácia Santa Cristina procura estar próxima da população, estando aberta todos os dias (Anexo 1) abrangendo, desse modo, uma população diversa o que permite um atendimento diferenciado e possibilitando um fácil acesso aos medicamentos.

## **ANÁLISE SWOT**

O presente relatório faz uma avaliação do estágio curricular realizado na Farmácia Santa Cristina entre 7 de janeiro e 26 de abril, por meio de uma análise SWOT, avaliando-o numa perspetiva interna e externa. A nível interno, são avaliados os pontos fortes (*Strengths*) e os pontos fracos (*Weakness*) e a nível externo as oportunidades (*Opportunities*) e as ameaças (*Threats*) experienciadas ao longo deste período. Em anexo, é apresentada a reunião de todos os aspetos que considere relevantes incorporar nesta análise (Anexo 2).

### **Pontos Fortes**

#### Instalações

Ao ter sido inaugurada no ano de 2018, a Farmácia Santa Cristina apresenta excelentes instalações, equipada com *robot* e uma sala de atendimento convidativa com uma boa organização de lineares e grande diversidade de produtos. Durante o estágio pude constatar que o *robot* é um equipamento fundamental na Farmácia Comunitária, que facilita bastante o armazenamento de produtos, com capacidade de armazenar um grande número de medicamentos de um modo bastante organizado tendo em consideração o seu prazo de validade. A cedência de medicamentos é também facilitada, com uma rápida chegada do medicamento até ao balcão, evitando o afastamento por parte do farmacêutico, deixando mais tempo para os devidos aconselhamentos, explicações e criação de empatia com os utentes. As instalações disponíveis na sala de atendimento ao público permitem a exposição de produtos sazonais em lineares com maior destaque a fim de aumentar a sua rotatividade, tendo eu, inclusive, participado na sua organização. O facto de apresentar boas áreas para disposição de produtos de modo organizado, torna possível oferecer aos utentes uma grande variedade de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e outros produtos de saúde. Enquanto estagiária, tive a oportunidade de conhecê-los, de conhecer a sua composição e as

suas particularidades, de modo a direcionar o meu aconselhamento para o utente certo, no momento certo.

### Equipa técnica

A equipa da Farmácia Santa Cristina (Anexo I) é jovem, dinâmica e pró-ativa, sempre com vontade de fazer mais e melhor e de trazer aquilo que prima a profissão de farmacêutico até aos utentes. A simpatia e boa disposição que lhes é característica e a disponibilidade em me ensinar e ajudar desde o início tornou bastante fácil a integração. O ambiente de entreajuda e espírito de equipa permitiu que tivesse o à vontade para esclarecer qualquer dúvida, fazendo-me sentir um verdadeiro membro da equipa.

### Planeamento do estágio

Porque nem só de atendimento ao público se faz a Farmácia Comunitária, no decorrer do meu estágio curricular tive oportunidade de conhecer e me familiarizar com todas as etapas do circuito do medicamento, o que considero ter sido bastante vantajoso para a minha aprendizagem. No período de ambientação, nas primeiras semanas, as minhas tarefas concentraram-se no *backoffice*. Comecei por proceder à receção de encomendas diárias de diferentes armazenistas e provenientes diretamente de laboratórios, cada um com as suas particularidades. A receção de encomendas é um procedimento de grande relevância na farmácia, tendo as quantidades, validades e os preços que ser tidos muito bem em conta. Os medicamentos e outros produtos de saúde eram separados consoante o destino de arrumação que se encontrava descrito no separador “Ficha do Produto” do Sifarma 2000<sup>®</sup>, o que para mim facilitou bastante o processo de organização e arrumação de todos os produtos. Tanto no *robot*, como nas prateleiras e nos lineares, o prazo de validade era o fator crítico da arrumação. Este trabalho de *backoffice* permitiu-me conhecer muitos produtos, reconhecê-los pela sua embalagem secundária e facilitar a associação entre a marca e a designação comum internacional (DCI). Conceitos como “Gestão de *stocks*”, “Via Verde”, “Encomenda instantânea”, “Medicamento reservado” e “Devolução” passaram a ser familiares.

Depois de conhecer o mecanismo do *backoffice*, iniciei o contacto com o público passando a acompanhar os atendimentos, prestando atenção tanto aos aconselhamentos como às dúvidas dos utentes. Além de presenciar atendimentos, um fator preponderante para me aperceber da dinâmica de um bom atendimento foi a realização de casos práticos, o que me permitiu conhecer todas as etapas e perguntas cruciais a fazer. Além de me dar a possibilidade de conhecer novos produtos, estimulou as minhas capacidades de comunicação com os

utentes. Foi-me também explicado todos os fatores relevantes do receituário, os diferentes regimes de comparticipação e todos os aspetos a ter em consideração quando nos chega uma receita manual ao balcão. Posteriormente, já com autonomia com o sistema informático, conhecimento da localização dos produtos e dos aspetos fulcrais a ter em consideração na prestação de um bom atendimento, passei à fase seguinte, o atendimento.

### Atendimento ao balcão

O atendimento ao balcão é complexo, exigente e de grande responsabilidade face ao impacto que tem na saúde do utente. Há que dar muita atenção ao discurso e linguagem utilizada, devendo esta ser simples e esclarecedora, uma vez que a maioria dos utentes que visita a farmácia são idosos e pessoas com poucos conhecimentos na área. O ponto chave da Intervenção Farmacêutica é promover o uso racional do medicamento, apresentando todas as informações necessárias à sua correta administração, promovendo a adesão à terapêutica e hábitos de vida saudáveis. Os momentos mais gratificantes do meu estágio foram, sem dúvida, quando me apercebi, em alguns atendimentos, que os utentes reconhecem o valor do farmacêutico enquanto profissional de saúde competente no aconselhamento do medicamento. Quando sentia que os meus aconselhamentos estavam a ser atentamente ouvidos e seriam postos em prática e que, com apenas um sorriso, demonstrando um pouco de atenção e preocupação com o utente conseguia de algum modo melhorar a sua saúde e bem-estar, deixou-me extremamente feliz. E é essa, para mim, a essência da Farmácia Comunitária.

### Medicamentos manipulados

Entende-se como medicamento manipulado *“qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade do farmacêutico”* (Portaria n.º 594/2004 de 2 de junho). No decorrer do estágio tive oportunidade de preparar alguns medicamentos manipulados recordando algumas das técnicas da Farmácia Galénica como solução alcoólica de ácido bórico à saturação para uso auricular e pomada de Dermovate® e ácido salicílico. Foi-me dada também a possibilidade de preencher a Ficha de Preparação do Medicamento Manipulado identificando as matérias-primas, etapas da preparação, materiais utilizados, condições de armazenamento e prazo de validade, cálculo de preço e proceder à sua rotulagem.

### Serviços farmacêuticos

As farmácias podem prestar serviços farmacêuticos de promoção da saúde e do bem-estar dos utentes (Portaria n.º 1429/2007 de 2 de novembro, Portaria n.º 97/2018 de 9 de abril), permitindo um acompanhamento personalizado com vista à melhoria da qualidade de vida do utente. A Farmácia Santa Cristina encontra-se equipada com um gabinete de atendimento personalizado onde, tal como anteriormente referido, são prestados serviços como Medição de Parâmetros Bioquímicos e Pressão Arterial, Administração de Injetáveis, Consultas de Nutrição semanais e Consultas de Podologia mensais. Durante o período de estágio tive oportunidade de proceder à medição da pressão arterial, um serviço muito solicitado diariamente na farmácia e também medição da glicémia e colesterol total. Estas medições são bastante úteis no controlo e prevenção da diabetes, hipertensão, hipercolesterolemia, doença cardiovascular e aterosclerose. Com base nos valores obtidos e no histórico do utente, era prestado o devido aconselhamento em relação ao seu estilo de vida e hábitos alimentares alertando-o, quando fosse caso, para a importância de uma correta adesão à terapêutica. Os serviços farmacêuticos prestados são uma excelente oportunidade para os utentes, permitindo uma maior proximidade com o farmacêutico.

### **Pontos Fracos**

#### Associação entre DCI e nome comercial

Associar o nome comercial do medicamento de marca à DCI foi uma das grandes dificuldades que senti durante o período de estágio, facto esse que me deixava um pouco insegura no atendimento. No caso de medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) a prescrição em receitas eletrónicas é maioritariamente feita por DCI, no entanto, o utente solicita muitas vezes o medicamento pela marca, o que para um recém estagiário chegado à farmácia constitui uma grande barreira à comunicação. Na fase inicial do atendimento ao público houve alguma dificuldade em fazê-lo corresponder ao seu princípio ativo tendo sido o *software* Sifarma 2000<sup>®</sup> crucial para me auxiliar nesta correspondência. Com o decorrer do estágio, tanto a receção de encomendas como o processo de arrumação de medicamentos foram uma grande ajuda para ultrapassar esta adversidade.

#### Receitas manuais

A maioria das prescrições são, atualmente, feitas por via eletrónica, no entanto, uma receita poderá ser prescrita manualmente em situações excecionais como falência do sistema informático, inadaptação fundamentada do prescritor, prescrição ao domicílio e outras

situações até um máximo de quarenta receitas médicas por mês (Portaria n.º 224/2015 de 27 de julho).

Para que os medicamentos contidos numa receita manual possam ser dispensados, o farmacêutico terá de ter em consideração muitos pormenores como o prazo de validade da receita, a assinatura do prescritor e vinheta, nome, número de utente/beneficiário e a entidade responsável, bem como a justificação que levou à prescrição em receita manual. A validação deste tipo de receitas foi das situações no atendimento em que mais senti dúvidas, muito pela interpretação da caligrafia do prescritor. A existência de inúmeros planos de comparticipação, ter em atenção se a impressão no verso correspondia de facto à receita e que a assinatura do utente não era esquecida, levou a algum nervosismo e insegurança da minha parte, especialmente quando me deparei com os primeiros atendimentos.

### Duração do estágio

O estágio curricular em Farmácia Comunitária acaba por ser a ligação que faltava entre os conhecimentos adquiridos ao longo de todo o percurso académico e a realidade da farmácia. No entanto, encarar esta realidade demora algum tempo, há que aprender a abordar o utente e todos os mecanismos e procedimentos subjacentes à prática. Considero que para ganharmos alguma confiança nesta profissão precisamos de algum tempo de aprendizagem pelo que, quando me sentia já verdadeiramente confiante e confortável nas tarefas, o estágio deu-se por concluído. Acredito que seria vantajoso se a prática da Farmácia Comunitária fosse iniciada mais cedo, sendo incorporada no plano curricular a par com a componente teórica do MICEF.

## **Oportunidades**

### Realização de Rastreamentos Cardiovasculares

A Farmácia Santa Cristina deu-me a oportunidade de realizar Rastreamentos Cardiovasculares mensais no decorrer do meu período de estágio. Este incluiu a medição da pressão arterial, glicémia, colesterol total, cálculo do IMC e o preenchimento de um questionário relativo ao estilo de vida e histórico clínico e farmacológico do utente. Com base nos dados obtidos, verificava numa tabela de cálculo de SCORE o risco de vir a desenvolver uma doença cardiovascular. Este rastreio permitiu-me fazer alguns aconselhamentos sobre estilo de vida e terapêutica e conhecer e criar empatia com alguns utentes. O tratamento de dados dos questionários será apresentado mais à frente.

### Newsletter mensal

A equipa da Farmácia Santa Cristina partilha mensalmente com os seus utentes algumas explicações e conselhos relacionados com um determinado problema de saúde com uma linguagem simples, as chamadas *newsletters*, aproveitando também para a promoção de alguns produtos. Enquanto estagiária, tive oportunidade de participar na realização de algumas *newsletters*, nomeadamente sobre problemas cardiovasculares e eczema, tendo sido uma boa ferramenta para me auxiliar a conhecer alguns produtos e algumas características dos problemas de saúde em questão.

### Formações

O farmacêutico deve procurar manter atualizadas as suas capacidades técnicas e científicas, com vista a melhorar e aperfeiçoar a sua atividade enquanto profissional e agente de saúde pública (Decreto-Lei n.º 288/2001 de 10 de novembro).

Durante o período de estágio tive oportunidade de assistir a formações por parte de delegados de informação médica e farmacêutica, essenciais para a formação contínua do farmacêutico comunitário. Na farmácia assisti a formações nomeadamente da Frezyderm<sup>®</sup>, Pharma Nord (BioActivo<sup>®</sup> Crómio, Q10 Forte), Zambon (Fluimucil<sup>®</sup>), Mylan (Sargenor<sup>®</sup>, Levotuss<sup>®</sup>) e Velvet Med (Velvita C<sup>®</sup>, Imunavit<sup>®</sup>, Moviplus<sup>®</sup>, Moviplus<sup>®</sup> Artro, Magnetril<sup>®</sup>, Diosven<sup>®</sup>). Tive ainda oportunidade de assistir a algumas formações em Coimbra, como da Nestlé Health Science<sup>®</sup> e Norgine (Movicol<sup>®</sup>, Normacol<sup>®</sup> plus) no Hotel Vila Galé, Distúrbios Capilares (queda de cabelo e dermatite seborreica) e soluções terapêuticas da Cantabria Labs (Cistitone<sup>®</sup> forte, Cistitone<sup>®</sup> ferro, Cistitone<sup>®</sup> forte BD, Cistitone<sup>®</sup> Agaxidil, Piltone<sup>®</sup> forte, Folcare<sup>®</sup>: Minoxidil 5%, Folstim<sup>®</sup> tónico e champô fortificante e seborregulador, KPL<sup>®</sup> Plus, KPL<sup>®</sup> DS) na Plural – Cooperativa Farmacêutica e Avène no Hotel Tivoli. Considero que todas estas formações foram muito importantes, permitindo-me conhecer melhor alguns dos produtos mencionados e dando-me a conhecer outros, aumentando a minha confiança na hora do aconselhamento ao utente e ajudando ao desenvolvimento de técnicas de *cross-selling*.

## **Ameaças**

### Lacunas no Plano Curricular do MICF

Apesar do MICF ser um curso bastante complexo, com um grande número de unidades curriculares variadas e de grande aplicabilidade no futuro, considero que existem algumas lacunas que se mostram determinantes com a chegada à Farmácia Comunitária. Caso disso

são os medicamentos e preparações de uso veterinário e produtos de cosmética, em que senti muitas vezes, que os conhecimentos que adquiri não foram suficientes para a realidade da farmácia. Inicialmente, quando confrontada com atendimentos em que me solicitavam produtos destas gamas senti alguma insegurança acabando por ter de pedir auxílio para fazer um bom e completo aconselhamento. Considero que as áreas curriculares que abordam estas temáticas, Preparações de Uso Veterinário e Dermofarmácia e Cosmética, poderiam ser mais vantajosas se tivessem uma vertente mais prática direcionada para o aconselhamento farmacêutico.

#### Falta de medicamentos

No decorrer do estágio fui-me deparando com o facto de muitos medicamentos ficarem esgotados por tempo indeterminado no armazenista ou mesmo no próprio laboratório. Em determinadas situações, e quando o utente aceitava, havia a possibilidade de optar por um genérico ou um genérico diferente, mas nem sempre existia uma alternativa viável. Explicar aos utentes, especialmente aos idosos, que o seu medicamento se encontrava esgotado e que não havia previsão da sua chegada era complicado, porque muitas vezes eles atribuíam a culpa à farmácia pelo desconhecimento de todo o circuito do medicamento. Esta falta constante de medicamentos compromete a terapêutica de muitos utentes pondo em risco a saúde pública.

#### Alterações do preço e comparticipação de medicamentos

Durante o período de estágio pude verificar que a mudança do preço de venda ao público e comparticipações por parte do Estado, no que diz respeito a MSRM, eram recorrentes. Esta situação gera, por vezes, algumas dúvidas e desconfiança por parte dos utentes, chegando a suspeitar que é a farmácia que estipula os preços dos MSRM, cobrando mais por sua vontade. Nestas circunstâncias é fundamental uma boa e clara comunicação, adequando o discurso consoante o utente que temos à nossa frente, de modo a que sejam clarificadas todas as suas dúvidas.

#### Falta de confiança nos medicamentos genéricos

O medicamento genérico continua a ser visto por muitos utentes como um medicamento de menor qualidade, segurança e eficácia pelos preços praticados serem normalmente mais baixos. Afirmações como “não quero genéricos”, “os genéricos não fazem nada” eram recorrentes e, apesar da tentativa de explicar o que de facto era um medicamento genérico e a razão pela qual os preços são inferiores, a justificação nem sempre era aceite até

porque partia do médico prescritor, muitas vezes, aconselhar o medicamento de marca. Havia utentes mais recetivos, que quando questionados quanto à preferência por genérico ou marca, perguntavam qual era de facto a diferença e, depois de explicado numa linguagem bastante simples, acabavam por optar pela opção economicamente mais viável.

### Locais de venda de MNSRM

Os MNSRM passaram a poder ser vendidos ao público fora das farmácias, em locais autorizados pelo Infarmed que cumpram os requisitos legais e regulamentares (Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de agosto).

A existência de locais de venda de MNSRM constitui uma das principais ameaças à Farmácia Comunitária, pois conseguem adquirir MNSRM, produtos cosméticos e de higiene corporal a um preço mais baixo sendo o preço de venda ao consumidor, geralmente, também mais baixo. O utente, dando-se conta destas eventuais discrepâncias, opta muitas vezes por comprar o produto fora da farmácia. Ora, não havendo obrigatoriedade na presença de um farmacêutico nestes locais, o aconselhamento aquando da cedência do produto poderá não ser garantido e a automedicação irresponsável é incentivada. Há que consciencializar os utentes que também os MNSRM têm possíveis efeitos adversos e interações, pelo que o seu uso deverá ser prudente, minimizando uma automedicação desmedida. Pela experiência recente de estágio na Farmácia Santa Cristina, pude dar conta deste aconselhamento diferenciado, em que o principal foco é a promoção do uso racional do medicamento e o bem-estar do utente.

## **CASOS PRÁTICOS**

### **Caso I**

AS, uma senhora de 71 anos, dirige-se à farmácia para comprar a medicação habitual e aproveita para pedir qualquer coisa para os pés que ultimamente têm andado muito negros.

Perante a situação, perguntei à senhora se me poderia mostrar os pés. Deparei-me com uns pés inchados, roxos, com a pele bastante sensível. Questionei-a quanto ao tempo de duração do sintoma, mas a utente não me conseguiu identificar um exato momento, nem nada que o pudesse ter desencadeado. Ao reparar na receita médica, deparei-me com uma prescrição Pradaxa<sup>®</sup> 75 mg que terá sido pela primeira vez prescrito há cerca de 6 meses. Ora, tratando-se o Pradaxa<sup>®</sup> de um anticoagulante, os efeitos secundários mais comuns estão associados ao aumento do risco de hemorragias e aparecimento de nódos negros. Como tal, aconselhei a senhora a referenciar a situação ao médico. Pela impossibilidade da própria em

procurar ajuda médica no imediato, aconselhei um creme hidratante pelo estado fragilizado da pele e um gel com efeito refrescante e relaxante para massajar, como o Cedraflon<sup>®</sup>, e a manter os pés levantados durante o repouso. No entanto, alertei-a a estar atenta a possíveis alterações da zona afetada, nomeadamente hemorragias, e referenciar a situação ao médico na próxima consulta, tendo eu inclusive mencionado a ocorrência na receita médica.

## **Caso 2**

JM, um senhor de 65 anos, dirige-se à farmácia e solicita uma embalagem de Voltaren<sup>®</sup> Emulgel<sup>®</sup> para dores nas pernas derivadas de esforço físico, já que acabou com a que tinha em casa, que tinha sido comprada para a esposa.

Perante a situação, questionei o senhor se tinha algum problema de saúde para o qual fazia medicação. A resposta foi afirmativa, sendo um utente que já frequentava a farmácia foi possível consultar o seu histórico de compras onde dei conta que o senhor JM tomava Xarelto<sup>®</sup>. A interação entre rivaroxabano e anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) está documentada já que o risco de hemorragia é aumentado com esta associação (Drugs, [s.d.]). Apesar do AINE ser de uso tópico, podendo os efeitos secundários não ser tão pronunciados, há que ter de igual modo esta interação em conta, especialmente quando utilizado regularmente ou por longos períodos. Havendo alternativas mais seguras, aconselhei ao senhor JM Moviplus<sup>®</sup> gel, à base de *Arnica Montana* e óleos essenciais como eucalipto e rosmaninho.

## **Caso 3**

SP, uma senhora de 48 anos, dirige-se à farmácia queixando-se de andar engripada e com tosse, solicitando Bissoltussin<sup>®</sup> já que viu passar a publicidade na televisão e pareceu-lhe ser uma boa opção.

Perante a situação, tentei perceber quais eram de facto os sintomas da utente, pelo que me fui apercebendo que andava com secreções nasais e tosse há dois dias, sem dores de corpo, garganta ou febre. Questionada quanto a medicação diária, a senhora SP afirmou que fazia apenas para a diabetes. De seguida, tentei perceber qual era o tipo de tosse, tosse seca ou produtiva, ao que a utente responde que tem muita expectoração. Ora, tentei explicar que nesse caso o Bissoltussin<sup>®</sup> não seria a melhor opção, já que está indicado para a tosse seca e irritativa. Optei por aconselhar um expectorante mucolítico, o Fluimucil<sup>®</sup>, que ajuda a diminuir a viscosidade do muco e a aumentar a fluidificação das secreções brônquicas, alertando para a

importância de uma boa hidratação. Aconselhei a não fazer a toma próximo da hora de deitar, já que a acetilcisteína ao facilitar a remoção das secreções, induz a tosse, pelo que poderá perturbar o sono. Este expetorante poderá ter como efeito secundário distúrbios gástricos, pelo que me certifiquei que não havia nenhum problema gástrico prévio. Para o pingo ao nariz, aconselhei a fazer limpeza das cavidades nasais com soro fisiológico ou água do mar isotónica. Dei a conhecer também produtos imunoestimulantes, neste caso o Imunavit<sup>®</sup>, rico em vitamina C, zinco, equinácea e própolis, sem açúcar adicionado, podendo ser cedido a diabéticos.

## **RASTREIO CARDIOVASCULAR**

Face ao tema da Monografia desenvolvido, foi-me dada a oportunidade de realizar Rastreios Cardiovasculares mensais os quais me permitiram, além de me familiarizar com os utentes, colocar em prática conhecimentos adquiridos ao longo do meu percurso académico com vista à melhoria da saúde do utente. Estes rastreios incluíram a medição de parâmetros bioquímicos e pressão arterial, cálculo do IMC e consulta de uma tabela de cálculo do risco de vir a desenvolver uma doença cardiovascular e o posterior preenchimento de um questionário com vista a avaliar hábitos de vida e historial clínico e farmacológico de utentes com idade superior a 40 anos (Anexo 3). Consoante as respostas, a minha postura ia sendo interventiva, fazendo aconselhamentos numa tentativa de educar o utente e promover o uso racional do medicamento.

O questionário, cujos resultados são apresentados graficamente em anexo (Anexo 4) teve uma amostra de 53 utentes, dos quais 33 (62%) eram do sexo feminino e 20 (38%) do sexo masculino. De entre os inquiridos, a maioria apresentava uma idade entre 60 e 80 anos, verificando-se para a faixa etária dos 60 aos 70 anos um valor de 43% e dos 70 aos 80 de 34%. Quando questionados quanto aos hábitos tabágicos, apenas 6 dos utentes (11%) responderam afirmativamente sendo, então, a maioria não fumadora (89%). Caminhadas, aulas de ginástica, hidroginástica ou ginásio foram algumas das respostas dadas pelos utentes quando questionados se praticavam algum tipo de atividade física, sendo que 49% afirmou ser uma prática rara, 17% praticar regularmente e 34% dos inquiridos afirmou não praticar qualquer tipo de atividade física. Quanto aos hábitos alimentares, a maioria dos utentes afirmou que eram saudáveis, 72%, 22% muito saudáveis e apenas 6% pouco saudáveis. Quanto a patologias já diagnosticadas, a maioria dos inquiridos apresenta mais do que uma, sendo que as que apresentam uma maior prevalência são a hipertensão (46 utentes) e dislipidémia (40 utentes). 27 indicaram sofrer de diabetes e 9 de doença cardiovascular tendo apenas 5 pessoas afirmado

não apresentar nenhum dos problemas de saúde mencionados no questionário. Relativamente aos utentes que referiram sofrer de dislipidemia, todos mencionaram apresentar níveis de colesterol elevado no sangue estando já os 40 indivíduos (75%) a ser medicados por indicação médica. Os doentes que sofriam de hipercolesterolemia estavam a ser medicados essencialmente com estatinas e uma pequena percentagem com ezetimiba tanto em associação como em monoterapia. As estatinas que mais foram mencionadas pelos utentes foram a sinvastatina (37%), a rosuvastatina (25%) e a atorvastatina (15%). Apenas 2 dos inquiridos tomam ezetimiba isoladamente (5%), 3 utentes (8%) fazem em associação sinvastatina e ezetimiba e 2 atorvastatina e ezetimiba (5%). Quando questionados quanto ao horário a que tomam a medicação, 24 utentes (60%) afirmaram tomar ao jantar, 11 (27%) ao deitar e 4 indivíduos ao almoço, por indicação médica, sendo que, neste caso, todos estavam a ser medicados com rosuvastatina que apresenta um tempo de semivida superior. Um utente não conseguiu mencionar qual o horário da toma do medicamento, pela quantidade de medicamentos que faz diariamente. A maioria dos inquiridos, 27 utentes, referiram ter iniciado o tratamento há mais de 3 anos (68%), 9 (22%) entre 1 e 2 anos e 3 (7%) há menos de 1 ano. Quanto a efeitos adversos, 17 utentes (42%) referiram ter sentido efeitos adversos, em particular dores musculares, com o início da toma de estatinas resultando, em alguns casos, na troca de estatina. De notar que uma utente referiu que estava a ponderar abandonar a medicação pelas dores serem constantes, tendo como profissional de saúde alertado para os riscos inerentes e a importância de uma correta adesão à terapêutica, aconselhando a procurar ajuda médica. O questionário terminou com a pergunta “Sabe o que é a aterosclerose?” sendo que dos 53 inquiridos, somente 3 sabia, de facto, do que se tratava. Seguidamente, introduzia o tema, fazendo uma breve explicação do que é a aterosclerose, quais as causas, riscos, consequências em linguagem simples e clara para que fosse perceptível por todos.

Com este questionário foi possível concluir, apesar do tamanho reduzido de amostra, que a prevalência de fatores de risco ao desenvolvimento de aterosclerose é elevada nos utentes que frequentam a Farmácia Santa Cristina. Verificou-se que muitos dos utentes apresentam inúmeras patologias que aumentam o risco cardiovascular, nomeadamente dislipidemia, hipertensão e diabetes, as mais prevalentes na população. Os hábitos de vida deveriam ser mais saudáveis para alguns dos utentes a fim de atingir um estilo de vida mais saudável. Este rastreio permitiu-me fazer alguns aconselhamentos sobre estilo de vida e terapêutica e conhecer e criar empatia com alguns utentes. O farmacêutico, como agente de saúde pública que promove a saúde e o bem-estar da comunidade, deverá ter a capacidade de proporcionar ao utente um atendimento e aconselhamento personalizado a fim de promover o uso racional do medicamento. Educar o utente a tomar o medicamento certo à hora certa,

e elucidá-lo quanto à importância de uma correta adesão à terapêutica são fundamentais, já que no caso das estatinas, pude verificar que era real o abandono da terapêutica decorrente da mialgia. Os utentes que constituem a Farmácia Santa Cristina são maioritariamente idosos pelo que é essencial adequar o discurso, tendo uma comunicação pausada e clara, para que os aconselhamentos possam ser interiorizados e futuramente seguidos.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Findado o estágio curricular em Farmácia Comunitária, saio um ser humano mais rico, não só em conhecimentos técnico-científicos, mas como pessoa. Aprendi e experienciei a dinâmica diária de uma farmácia, todas as tarefas, todo o circuito do medicamento ou produto de saúde desde a chegada do armazenista até ao ato da dispensa ao utente. Aprender a lidar com a pessoa que temos diante de nós, a transmitir informação da maneira mais simples e com a postura correta, ajudou-me a crescer e, sobretudo, a dar mais valor a esta profissão tão nobre. Consegui perceber neste curto período que nem sempre é uma profissão fácil, há utentes mais difíceis, situações imprevisíveis todos os dias, chegando a ser desgastante quer física quer psicologicamente. Mas, com amor à profissão tudo se torna mais fácil. Cabe a nós, farmacêuticos, cultivar uma relação de confiança com o utente e diferenciarmo-nos no aconselhamento farmacêutico, promovendo o uso racional do medicamento sempre com vista à segurança e saúde da população.

Quando entrei na farmácia no primeiro dia, não acreditava que fosse possível aprender e viver tanta coisa em tão pouco tempo. Parto agora com o sentimento de dever cumprido, de uma etapa tão especial do meu percurso académico que irá, sem qualquer dúvida, deixar saudade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de agosto. Diário da República n.º 156/2005, Série I-A. Ministério da Saúde, Lisboa.

Decreto-Lei n.º 288/2001 de 10 de novembro, artigo 83.º. Diário da República n.º 261/2001, Série I-A. Ministério da Saúde, Lisboa.

Drugs – Drug Interaction Report. [Acedido a 17 de junho de 2019] Disponível em: [https://www.drugs.com/interactions-check.php?drug\\_list=3332-0,871-12641](https://www.drugs.com/interactions-check.php?drug_list=3332-0,871-12641)

Portaria n.º 1429/2007 de 2 de novembro. Diário da República n.º 211/2007, Série I. Ministério da Saúde, Lisboa.

Portaria n.º 224/2015 de 27 de julho. Diário da República n.º 144/2015, Série I. Ministério da Saúde, Lisboa.

Portaria n.º 594/2004 de 2 de junho. Diário da República n.º 129/2004, Série I-B. Ministério da Saúde, Lisboa.

Portaria n.º 97/2018 de 9 de abril. Diário da República n.º 69/2018, Série I. Ministério da Saúde, Lisboa.

Santos HJ, Cunha IN, Coelho PV, Cruz P, Botelho R, Faria G, Marques C, Gomes A. Boas Práticas de Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária (BPF). Conselho Nacional de Qualidade, 3ª Edição, 1-53, 2009. [Acedido a 12 de junho de 2019] Disponível em: <http://www.ordemfarmaceuticos.pt/>

## ANEXOS

### Anexo I – Contextualização da Farmácia Santa Cristina

<b>Localização</b>	Urbanização da Barreira nº25 R/C 3150-110, Condeixa-a-Nova
<b>Horário de funcionamento</b>	Segunda a Sábado: 8h30 – 20h30 Domingo: 9h – 14h
<b>Direção Técnica</b>	Dra. Ana Rita Pereira
<b>Farmacêuticos</b>	Dra. Maria do Rosário Carvalho (Farmacêutica Substituta) Dra. Inês Andrade Dra. Paula Correia Dra. Rita Santos
<b>Técnico Auxiliar de Farmácia</b>	Lisete Garrido

### Anexo 2 – Tabela resumo da análise SWOT do estágio na Farmácia Santa Cristina

<b>Dimensão Interna</b>	
<b>Pontos Fortes</b>	<b>Pontos Fracos</b>
Instalações Equipa técnica Planeamento do estágio Atendimento ao balcão Medicamentos manipulados Serviços farmacêuticos	Associação entre DCI e nome comercial Receitas manuais Duração do estágio
<b>Dimensão Externa</b>	
<b>Oportunidades</b>	<b>Ameaças</b>
Realização de Rastreamentos Cardiovasculares Newsletter mensal Formações	Lacunas no Plano Curricular do MICF Falta de medicamentos Alterações do preço e comparticipação de medicamentos Falta de confiança nos medicamentos genéricos Locais de venda de MNSRM

## Anexo 3 – Questionário realizado aos utentes no Rastreio Cardiovascular

### Questionário

Os dados deste questionário serão utilizados na elaboração de um relatório de estágio em Farmácia Comunitária.

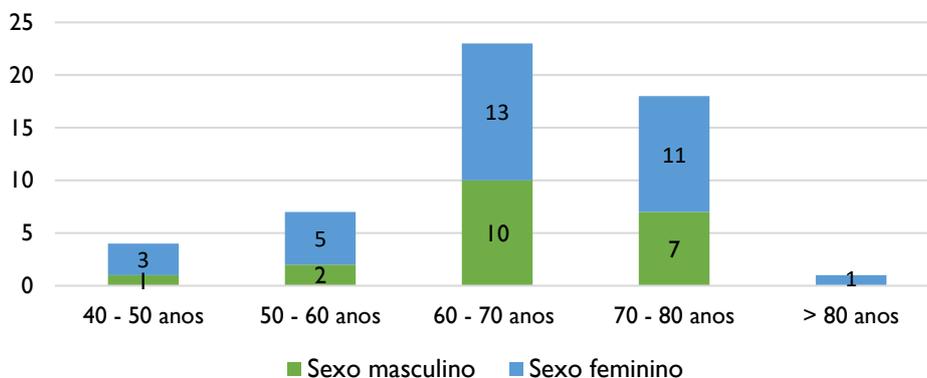
Obrigado pela sua colaboração.

1. **Idade:** 40-50  50-60  60-70  70-80  >80
2. **Género:** Feminino  Masculino
3. **Fuma?** Sim  Não
4. **Pratica atividade física?** Sim, com frequência  Sim, mas raramente  Não
5. **Hábitos alimentares: com que frequência consome dieta com elevado teor em gordura?**  
Sempre  Frequentemente  Raramente  Nunca
6. **Patologias diagnosticadas:**  
Hipertensão   
Dislipidémia   
Diabetes *mellitus*   
DCV (EAM, síndrome coronário agudo, revascularização coronária, AVC ou outra doença periférica)   
Nenhuma   
NS
7. **Toma medicação de forma regular para:**  
Hipertensão   
Dislipidémia   
Diabetes *mellitus*   
Nenhuma   
NS
8. **Tem o colesterol elevado?** Sim  Não  NS 
  - 8.1. **Faz medicação?** Sim  Não 
    - a) **Se sim, qual?** \_\_\_\_\_
    - b) **A que hora do dia toma?** \_\_\_\_\_
    - c) **Há quanto tempo?** <1 ano  1-2 anos  >3 anos
    - d) **Notou algum efeito adverso no seu corpo após início do tratamento?** Sim   
Não   
**Se sim, qual?** \_\_\_\_\_

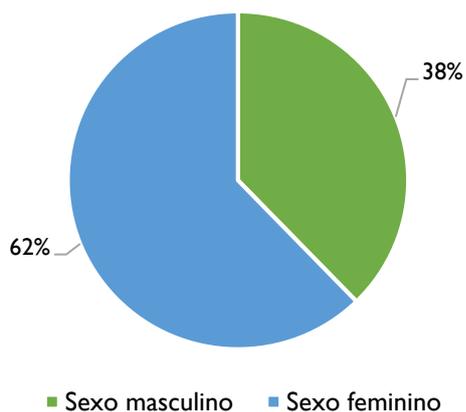


**Anexo 4 – Representação gráfica dos resultados obtidos nos questionários realizados aos utentes que participaram no Rastreio Cardiovascular**

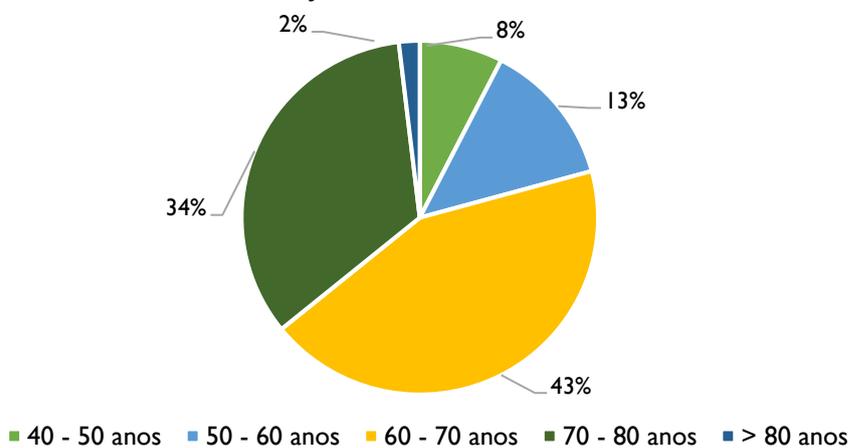
**Distribuição dos utentes em idade e sexo**



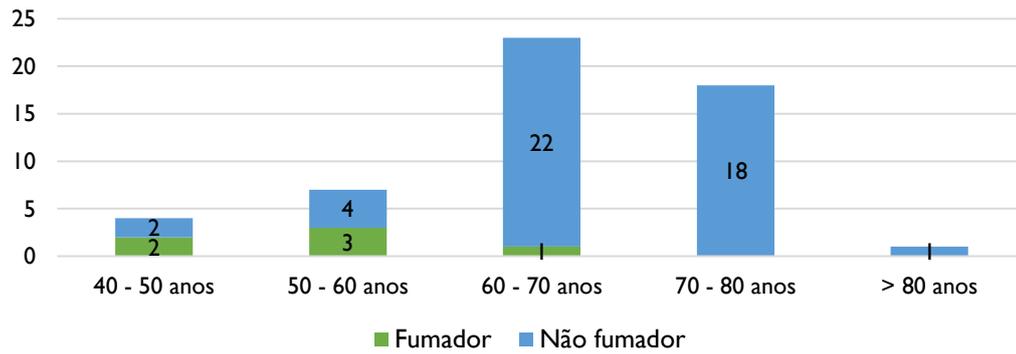
**Distribuição dos utentes em sexo**



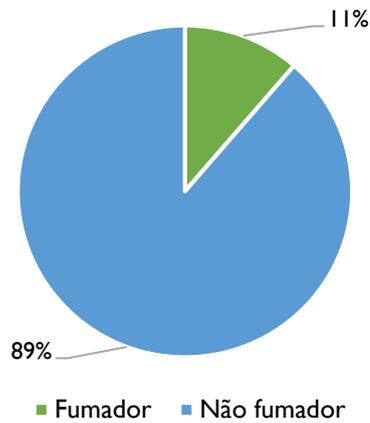
**Distribuição dos utentes em idade**



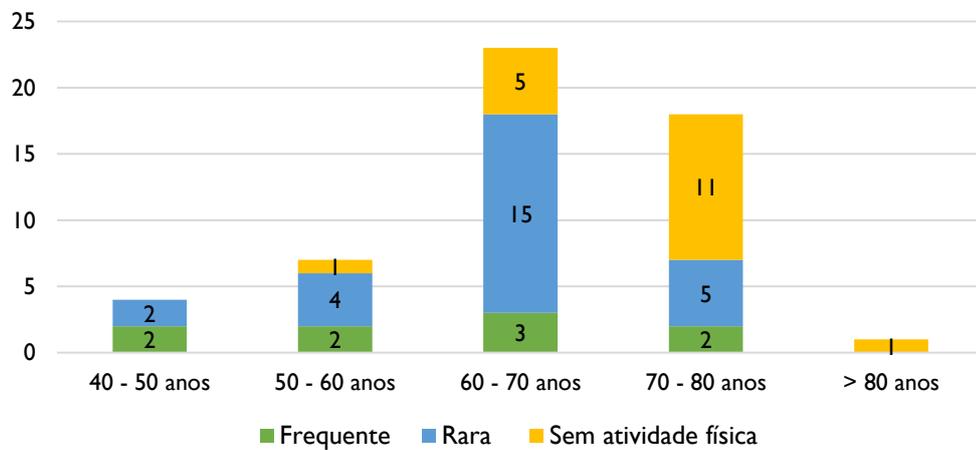
**Distribuição dos utentes em fumadores vs não fumadores**



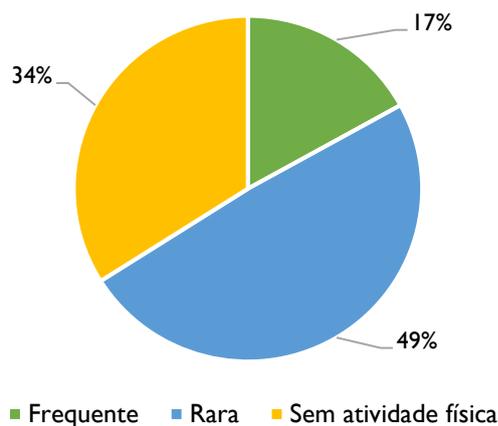
**Distribuição dos utentes em fumadores vs não fumadores**



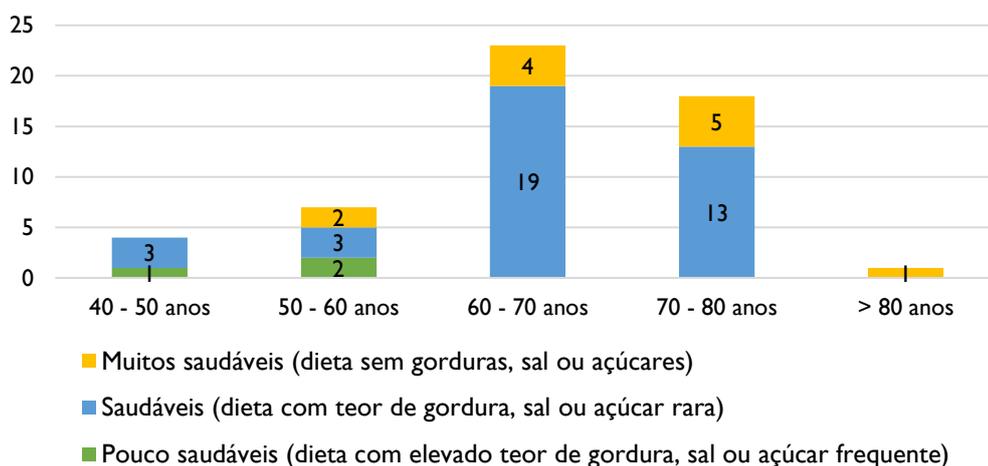
**Atividade física dos utentes (ginásio, aulas de hidroginástica, caminhadas, etc)**



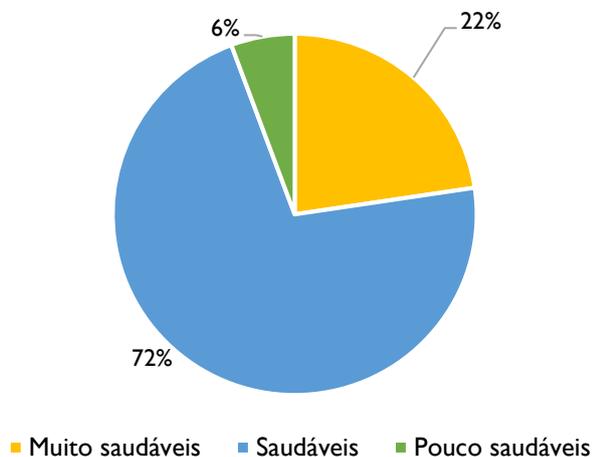
### Atividade física dos utentes (ginásio, aulas de hidroginástica, caminhadas, etc)



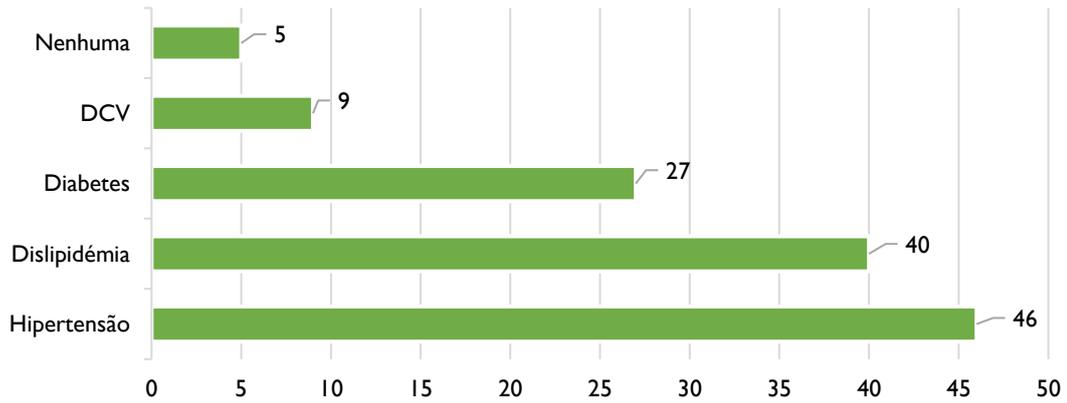
### Hábitos alimentares dos utentes



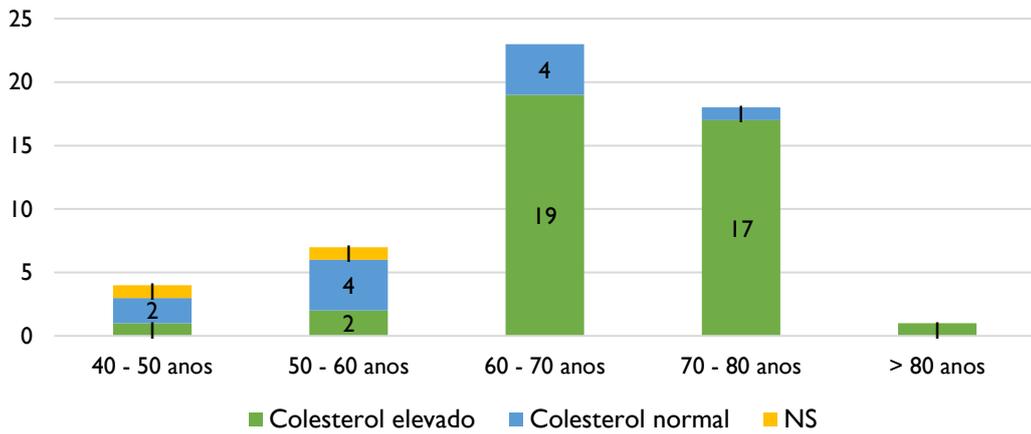
### Hábitos alimentares dos utentes



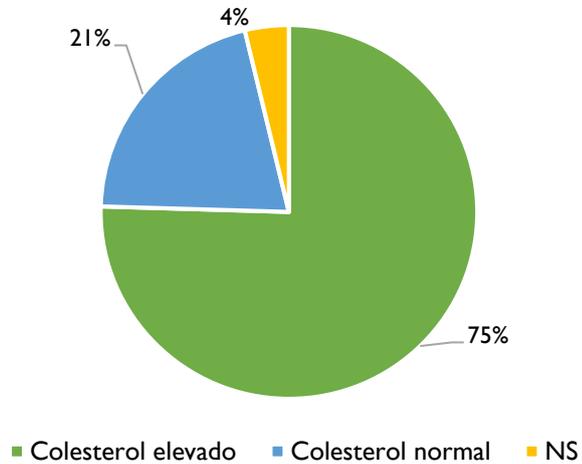
### Patologias diagnosticadas



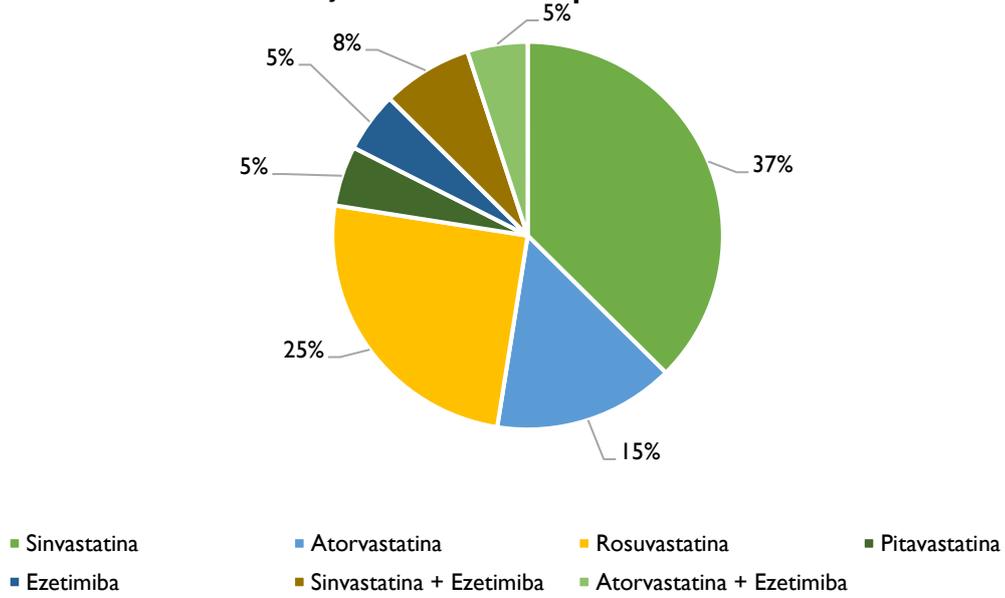
### Níveis de colesterol



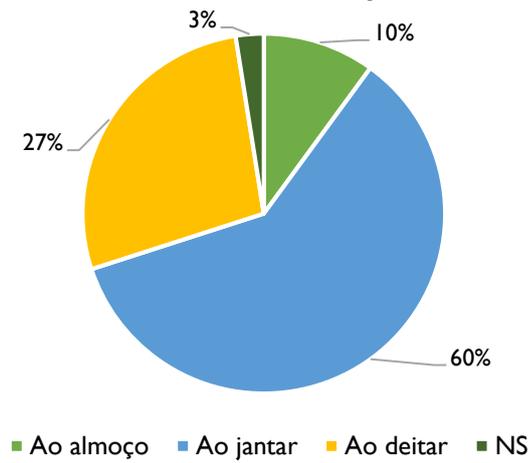
### Níveis de colesterol



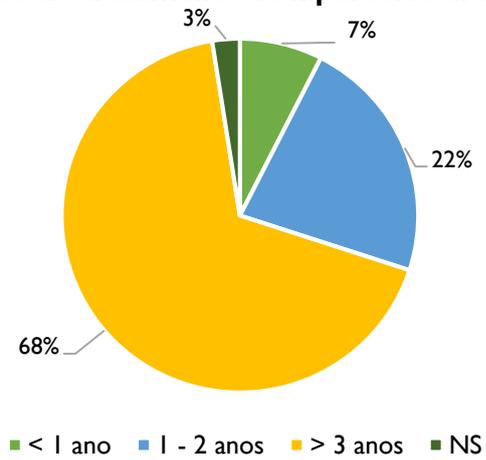
### Medicação dos utentes hipercolesterolémicos



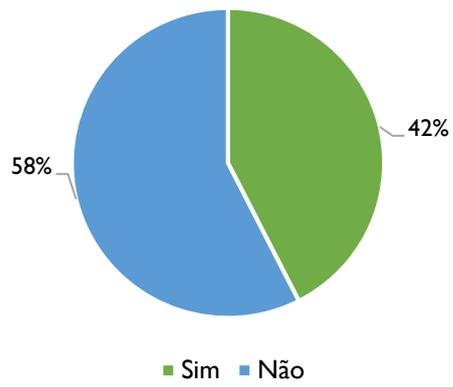
### Horário da toma da medicação para o colesterol



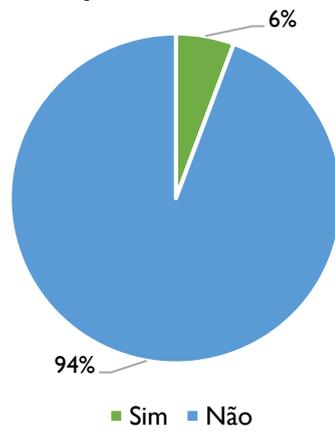
### Duração do tratamento da hipercolesterolemia



### Efeitos adversos coincidentes com o início da toma da medicação



### Sabe o que é a aterosclerose?



# **CAPÍTULO III**

## **Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica**



(Bluepharma, [s.d.])

Orientado pela Dra. Ana Filipa Lemos

## **ABREVIATURAS**

**FDA** – *Food and Drug Administration*

**GMP** – Boas Práticas de Fabrico

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**PQR** – *Product Quality Review*

**QP&C** – Qualidade do Produto e *Compliance*

**SOP** – *Standard Operating Procedure*

**SWOT** – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*

## RESUMO

A Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra proporciona aos seus estudantes a oportunidade de realizar um estágio curricular numa outra área do domínio farmacêutico que não a Farmácia Comunitária. Assim, candidatei-me à realização de um estágio na Bluepharma Indústria Farmacêutica, S.A. onde integrei a equipa do departamento Qualidade do Produto e *Compliance* (QP&C) durante cerca de três meses.

Além de consolidar conhecimentos adquiridos durante os anos de formação teórica do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) de unidades curriculares como Tecnologia Farmacêutica, Gestão e Garantia da Qualidade e Assuntos Regulamentares e de ver a sua aplicação prática, adquiri novas competências essenciais para o meu crescimento enquanto profissional.

O presente relatório apresenta-se sob a forma de análise SWOT (*Strengths, Weakness, Opportunities e Threats*) onde são destacados os pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças vivenciados ao longo do período de estágio, bem como uma avaliação à sua frequência e adequação do plano de estudos do MICF à perspetivas profissionais futuras.

**Palavras-chave:** Análise SWOT, Estágio, Indústria Farmacêutica, Qualidade.

## ABSTRACT

The Faculty of Pharmacy of the University of Coimbra provides its students the opportunity to undertake an internship in another area of the pharmaceutical intervention besides Community Pharmacy. So, I applied for an internship at Bluepharma Pharmaceutical Industry, S.A. where I joined the team of the Product Quality and Compliance (QP&C) department for three months.

During internship I consolidated knowledge acquired during academic years of the Integrated Master in Pharmaceutical Sciences (MICF) of curricular units such as Pharmaceutical Technology, Quality Management and Assurance and Regulatory Affairs and acquired essential skills for my growth as a professional.

This report is written in the form of SWOT analysis which highlights the strengths, weaknesses, opportunities and threats experienced during the internship. An assessment of its frequency and suitability of MICF study plan for the professional future is also made.

**Keywords:** SWOT Analysis, Internship, Pharmaceutical Industry, Quality.

## **INTRODUÇÃO**

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) possibilita a realização de um segundo estágio, para além do de Farmácia Comunitária, permitindo aos estudantes enveredarem por outras áreas do medicamento. Com a chegada ao fim do nosso percurso académico são muitas as dúvidas que surgem quanto ao nosso futuro profissional, daí que considero importante, já que nos é dada essa oportunidade, experienciar outras áreas além da Farmácia de oficina. Assim, candidatei-me à realização de um estágio curricular em Indústria Farmacêutica, mais precisamente na Bluepharma Indústria Farmacêutica, S.A. e, na sequência de uma entrevista, fui selecionada para o departamento Qualidade do Produto e *Compliance* (QP&C) durante o período de 13 de maio a 31 de julho.

O presente relatório diz respeito ao estágio realizado na Bluepharma Indústria Farmacêutica, S.A. situada em São Martinho do Bispo, sob orientação e tutela da Dra. Ana Filipa Lemos. Durante cerca de três meses foi possível aperceber-me da verdadeira dinâmica da Indústria Farmacêutica, realidade desconhecida por mim até então. Tive oportunidade de conhecer todo o circuito de produção de um medicamento desde a chegada de matérias-primas até ao produto final. O departamento QP&C encontra-se organizado em diferentes grupos de trabalho estando o meu estágio integrado no grupo de apoio à Produção. Este concentrou-se na realização de *Product Quality Review* (PQR), documento transversal a toda a Indústria Farmacêutica uma vez que é requisito das Boas Práticas de Fabrico (GMP). Tive também oportunidade de passar pelos outros grupos de trabalho e conhecer a dinâmica do seu trabalho diário, participar em diversas ações de formação e elaborar *Dossiers* de Produto.

O relatório encontra-se organizado segundo as Normas Orientadoras da Unidade Curricular “Estágio” 2018/2019, apresentando-se sob a forma de análise SWOT (*Strengths, Weakness, Opportunities e Threats*) fazendo uma avaliação de todo o meu estágio, a sua frequência, tendo em consideração os anos de aprendizagem do MICF e a sua adequação às perspetivas futuras.

## **BLUEPHARMA**

A Bluepharma é uma empresa farmacêutica portuguesa com sede em Coimbra que iniciou a sua atividade em 2001 na sequência da aquisição de uma unidade industrial pertencente à multinacional Bayer. A sua atividade desenvolve-se ao nível de três áreas, a produção de medicamentos próprios e para terceiros, investigação, desenvolvimento e registo de medicamentos e comercialização de medicamentos genéricos (Bluepharma, [s.d.]).

O Grupo Bluepharma tem atualmente diferentes valências, sendo uma delas a unidade industrial, Bluepharma Indústria Farmacêutica, S.A. onde realizei o meu estágio curricular.

Como referido anteriormente, integrei o departamento QP&C em que o objetivo principal consiste em garantir que todos os lotes são fabricados de acordo com o aprovado na Autorização de Introdução no Mercado (AIM) e com as normas GMP e que estes são analisados e cumprem as especificações antes de serem libertados. Em anexo é apresentada uma breve contextualização referente ao departamento suprarreferido (Anexo 1).

## **ANÁLISE SWOT**

O presente relatório faz uma avaliação do estágio curricular realizado no departamento QP&C da Bluepharma Indústria Farmacêutica, S.A. entre 13 de maio e 31 de julho por meio de uma análise SWOT, avaliando-o numa perspetiva interna e externa. A nível interno, são avaliados os pontos fortes (*Strengths*) e os pontos fracos (*Weakness*) e a nível externo as oportunidades (*Opportunities*) e as ameaças (*Threats*) experienciadas ao longo deste período. Em anexo, é apresentada a reunião de todos os aspetos que considere relevantes incorporar nesta análise (Anexo 2).

### **Pontos Fortes**

#### Processo de acolhimento e integração

A entrada de um novo colaborador na Bluepharma, mesmo que se trate de um estagiário curricular, inclui uma sessão de boas vindas e acolhimento por parte do departamento de Recursos Humanos e a sua posterior apresentação aos restantes departamentos. Aos novos colaboradores é atribuído um tutor com a missão de acompanhar o seu percurso e tornar mais fácil a sua integração. Todos os membros se sentem integrados na equipa desde o primeiro dia, participando em sessões de formação tanto de apresentação da empresa como de conteúdos importantes para desempenhar as suas funções. Considero importante todo este envolvimento, ainda mais para um estagiário que nunca contactou com esta realidade e sente o receio e nervosismo normal com a chegada do primeiro dia de estágio.

#### Equipa técnica

A equipa do departamento QP&C constituída atualmente por vinte e um colaboradores é multidisciplinar e altamente qualificada, cuja formação académica compreende essencialmente a área das Ciências Farmacêuticas e Engenharias. Este departamento encontra-se organizado em diferentes grupos de trabalho, tendo cada um diferentes funções e objetivos a atingir, sendo a garantia da qualidade do produto transversal a todos. Além do grupo de apoio à Produção que tive oportunidade de integrar, faz parte o grupo de apoio ao

Desenvolvimento Galénico, o grupo de apoio ao Analítico, o grupo dos Equipamentos/Sistemas e o grupo da Certificação de lotes.

O departamento é dotado de um forte espírito de equipa, tendo-se mostrado disponível para me apoiar desde o primeiro dia, colocando-me à vontade para esclarecer qualquer dúvida, fazendo com que me sentisse parte integrante da mesma.

#### Formação interna

A Bluepharma apresenta um plano de acolhimento geral para todos os novos colaboradores que inclui algumas ações de formação com o objetivo de dar a conhecer a empresa, a sua missão, os diferentes departamentos e as suas atividades diárias, metodologias e *softwares*.

Ao nível do departamento QP&C, a formação inicia-se logo no primeiro dia, através da leitura de procedimentos, normas e *Standard Operating Procedures* (SOPs). Desta forma, fui-me conseguindo aperceber da dinâmica do departamento, do contexto em que se insere, os seus princípios e objetivos. Como suprarreferido, além da formação necessária para a realização de PQRs em que se focou o meu estágio, tive também oportunidade de passar pelos diferentes grupos de trabalho obtendo formação ao nível de Especificações de matérias-primas e produto semiacabado, Protocolos de Validação de Processos, Equipamentos, Gestão de Reclamações Técnicas e Libertações. Com a equipa de supervisão do departamento fiz a visita às instalações da fabricação, onde percorri todas as etapas do fabrico do medicamento, conhecendo os equipamentos utilizados e apercebendo-me dos aspetos críticos a serem tidos em consideração.

A preocupação da empresa em garantir a formação contínua dos seus colaboradores é notória, mesmo se tratando de um estagiário. A forte componente de formação que a Bluepharma exige constitui um ponto forte do meu estágio, facilitando a minha aprendizagem e integração.

#### Documentação efetuada: PQR

O meu plano de estágio focou-se na realização de PQRs, documento transversal a toda a Indústria Farmacêutica, uma vez que é requerido pelas GMP. O PQR é um relatório que compila todos os dados relativos a um produto específico, quer respeitantes ao fabrico, analíticos ou do próprio cliente, realizado anualmente e, no caso da Bluepharma, para todos os produtos fabricados, embalados e/ou analisados. O objetivo consiste em avaliar a consistência dos processos, permitindo identificar melhorias no produto e processo,

ressaltando tendências e verificando a adequação das especificações quer das matérias-primas quer do produto acabado.

A realização de um PQR exige uma grande capacidade de organização e foco pelo grande volume de informação que é necessário recolher com vista a analisá-la estatística e analiticamente, recorrendo a diferentes sistemas informáticos como o SAP<sup>®</sup>, JMP<sup>®</sup>, *Microsoft Office Excel* e *softwares* de acesso aos dados de dureza, peso e dimensões do produto. O PQR trata-se de uma ferramenta bastante útil na garantia da qualidade do produto e, tendo em conta a informação que inclui respeitante a todas as fases do fabrico de um medicamento, a sua realização proporcionou-me um elevado grau de conhecimento, permitindo-me alcançar uma visão global de todo o circuito de fabrico.

## **Pontos Fracos**

### Timing das ações de formação

Como anteriormente referido, o processo de acolhimento contempla várias formações de carácter geral com a finalidade de apresentar a empresa, os diferentes departamentos, as atividades desenvolvidas e ferramentas informáticas utilizadas, o que considero ser uma estratégia muito inteligente por parte da empresa, que facilita a integração dos novos colaboradores. No entanto, algumas destas ações de formação não tiveram o impacto esperado pelo seu *timing* não ter sido o mais adequado, uma vez que algumas foram realizadas tardiamente. Além disso, os estagiários não chegaram a ser incluídos em algumas formações, nomeadamente “Ennov Doc, Ennov Process – Perfil Geral”, o que considero ter sido um aspeto negativo já que no decorrer do meu período de estágio foi uma *software* de uso praticamente diário. Outro aspeto negativo foi o facto de não ter sido possível realizar a visita às instalações no âmbito das GMPs que normalmente acontece logo nos primeiros dias da chegada à Bluepharma, justificado por atrasos com as formações. Felizmente, acabei por ter a oportunidade de conhecer toda a Indústria com a ajuda dos meus colegas de departamento.

## **Oportunidades**

### Relacionamento com um Sistema de Gestão Integrado

A Bluepharma assume um compromisso centrado na garantia sistemática da qualidade de todos os produtos, aliando o respeito pelo meio ambiente e boas condições de trabalho dos colaboradores (Bluepharma, [s.d.]). Assim sendo, a empresa tem em vigor um Sistema de Gestão Integrado (Qualidade, Ambiente, Saúde e Segurança no trabalho, Gestão da Investigação, Desenvolvimento e Inovação) o qual se rege pelas normas ISO, NP, legislação

farmacêutica nacional e internacional, Legislação de Saúde e Segurança no Trabalho e Legislação Ambiental, transversal a todo o ciclo de vida do medicamento. Este segue as disposições das normas NP EN ISO 9001, NP EN ISO 14001, NP 4457, OHSAS 18001 / NP 4397 e Regulamento EMAS, GMP, Boas Práticas de Distribuição e legislação aplicável.

O conhecimento e familiarização com o disposto nestas normas traduzem-se numa mais-valia na possibilidade de um futuro contacto profissional com a Indústria Farmacêutica.

#### Aquisição de competências em sistemas informáticos

A realização de PQRs pressupõe o contacto diário com diferentes ferramentas informáticas, a maioria delas totalmente desconhecidas por mim até então. Adquiri competências com o SAP<sup>®</sup>, um *software* de gestão empresarial, o JMP<sup>®</sup>, um *software* de análise estatística e com o Ennov Doc e Ennov Process, *software* de gestão documental o que considero ter sido uma mais-valia a nível profissional. O *Microsoft Office Excel* foi também imprescindível à execução das minhas tarefas, sendo que, apesar de deter já algumas noções básicas, fui adquirindo novas competências com o decorrer do estágio o que se revelou uma excelente oportunidade, inclusive para o futuro.

#### Auditorias externas

As auditorias externas, realizadas tanto por clientes como por autoridades, têm como objetivo determinar em que medida os critérios de auditoria são satisfeitos, servindo como uma oportunidade de melhoria para a própria empresa. Durante o período de estágio, a Bluepharma foi alvo de inspeção da *Food and Drug Administration* (FDA), Infarmed e alvo de inúmeras auditorias por parte de diferentes clientes. Encaro esta experiência como uma oportunidade uma vez que toda a dinâmica e todos os procedimentos de preparação me eram totalmente desconhecidos.

#### Experiência em Indústria Farmacêutica

A formação de um farmacêutico pressupõe formação teórica e prática por um período de quatro anos e seis meses de estágio em Farmácia Comunitária ou Farmácia Hospitalar, no entanto, poderá ser da competência do farmacêutico a realização de atividades ao nível da Indústria Farmacêutica (Diretiva 2013/55/EU de 20 de novembro). Ou seja, apesar da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra possibilitar aos estudantes de Ciências Farmacêuticas a realização de estágio na Indústria, não há qualquer obrigatoriedade na realização deste. No entanto, com as crescentes oportunidades de emprego para

farmacêuticos neste meio, esta acaba por ser uma excelente oportunidade pelo grau de experiência que proporciona. Considero que a realização deste estágio foi uma mais-valia, permitindo-me adquirir uma verdadeira visão daquilo que é a Indústria Farmacêutica e possibilitando alargar o meu horizonte no que respeita a oportunidades profissionais.

## **Ameaças**

### Lacunas no Plano Curricular do MICE

A formação académica do MICE é bastante vasta e completa, no que respeita a unidades curriculares relacionadas com a Indústria Farmacêutica salientando Tecnologia Farmacêutica I, II, III, Gestão e Garantia da Qualidade e Assuntos Regulamentares. Apesar dos conceitos serem extremamente pertinentes, creio que não ficamos com uma verdadeira noção da sua aplicabilidade prática. Acredito que se o Plano Curricular do MICE fosse organizado de modo a interligar os conceitos entre as diferentes unidades referidas, talvez fosse fornecida uma melhor perspetiva daquilo que é a Indústria Farmacêutica, sobretudo aos estudantes com vontade de enveredarem nesta área.

No que respeita especificamente à Gestão e Garantia da Qualidade, considero que existem algumas falhas principalmente no que respeita à estrutura do programa. O facto de ter integrado a equipa do departamento QP&C, onde foram necessárias aplicar muitas noções e conhecimentos relacionados com esta unidade curricular, revelou algumas limitações da minha parte. Sendo a qualidade o pilar de toda a Indústria Farmacêutica, creio que seria vantajoso tornar esta área curricular mais atraente aos estudantes, que acabam por não ter a mínima noção da sua importância e mérito quando esta é lecionada.

### Necessidade de conhecimentos além das Ciências Farmacêuticas

No decorrer do estágio fui-me apercebendo que, apesar da formação que tive enquanto estudante de Ciências Farmacêuticas ter sido fulcral para o meu desempenho enquanto estagiária do departamento QP&C, foi necessário adquirir novas competências. A realização de PQRs pressupõe conhecimentos de estatística avançada e em *Microsoft Office Excel* e, apesar de o ter referido acima como uma oportunidade, não deixa de ser uma ameaça a falta de contacto com estas áreas no decorrer da nossa formação académica. Na minha opinião, a Faculdade de Farmácia teria jovens farmacêuticos mais formados e informados se oferecesse a possibilidade de aquisição de mais conhecimento nestas áreas, e também em língua inglesa, quer através de *workshops*, ações de formação ou cursos de curta duração. Apesar de

acontecerem por vezes algumas iniciativas do género, a sua frequência é baixa e está disponível apenas a um pequeno número de alunos.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Ao contrário de outras instituições de ensino, a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra proporciona aos seus estudantes a realização de um estágio em Indústria Farmacêutica, ajudando a abrir novas portas ao nosso futuro profissional. Com o crescente interesse em enveredar por áreas do medicamento que não a Farmácia Comunitária, esta é uma excelente oportunidade para adquirir novas experiências.

A realização do estágio curricular na Bluepharma, mais precisamente no departamento QP&C, estimulou o meu gosto pela área, permitindo-me aplicar conhecimentos de unidades curriculares como Gestão e Garantia da Qualidade, Tecnologia Farmacêutica e Assuntos Regulamentares e adquirir novas competências e conhecimentos que poderei levar para o futuro.

O balanço que faço desta experiência é extremamente positivo uma vez que consegui alcançar os objetivos propostos, algo que sem apoio de toda a equipa do departamento QP&C não teria sido possível. O espírito de equipa e entreaajuda presente ajudou-me a sentir integrada desde o primeiro dia, terminando este período capaz de desempenhar todas as tarefas propostas com a maior autonomia.

A realização deste estágio foi um marco significativo no meu percurso académico, permitindo-me crescer quer a nível pessoal, quer profissional. Encaro esta experiência como uma excelente oportunidade, ajudando a abrir novos horizontes, e *quijá*, a encontrar o rumo para o futuro.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Bluepharma [Acedido a 16 de julho de 2019] Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/>

Diretiva 2013/55/UE do Parlamento Europeu e do Conselho, Artigo n.º 44.º, de 20 de novembro de 2013. [Acedido a 20 de julho de 2019]

## ANEXOS

### Anexo I – Contextualização do departamento QP&C

<b>Localização</b>	São Martinho do Bispo 3045-016 Coimbra
<b>Horário de trabalho</b>	Segunda a Sexta: 8h30 – 17h30
<b>Direção Técnica Bluepharma e Diretora do Departamento Qualidade do Produto &amp; Compliance</b>	Dra. Maria Teresa Murta
<b>Colaboradores</b>	Ana Filipa Lemos Ana Filipa Lourenço Bruno Pires Carolina Almeida Catarina Dias Diva Silva Fernando Silva Florabela Santos Henrique Bentes Joana Pinto Joana Ferraz Pinto Mariana Simões Pedro Bento Pedro Neves Rui Pires Sandra Vieira Sara Vicente Sofia Abreu Sónia Campos Susana Torgal

**Anexo 2 – Tabela resumo da análise SWOT do estágio realizado na Bluepharma**

<b>Dimensão Interna</b>	
<b>Pontos Fortes</b>	<b>Pontos Fracos</b>
Processo de acolhimento e integração Equipa técnica Formação interna Documentação efetuada: PQR	<i>Timing</i> das ações de formação
<b>Dimensão Externa</b>	
<b>Oportunidades</b>	<b>Ameaças</b>
Relacionamento com um Sistema de Gestão Integrado Aquisição de competências em sistemas informáticos Auditorias externas Experiência em Indústria Farmacêutica	Lacunas no Plano Curricular do MICF Necessidade de conhecimentos além das Ciências Farmacêuticas