



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

André Miguel Rodrigues da Silva

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Vacinas de DNA e mRNA para Alergias” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Ana Paula Aires, Dra. Joana Ramos e da Professora Doutora Olga Borges Ribeiro, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2020



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

André Miguel Rodrigues da Silva

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Vacinas de DNA e mRNA para Alergias” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Ana Paula Aires, Dra. Joana Ramos e da Professora Doutora Olga Borges Ribeiro apresentadas à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

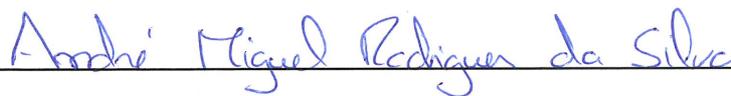
Setembro de 2020

Declaração de Autoria

Eu, André Miguel Rodrigues da Silva, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2015241436, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Vacinas de DNA e mRNA para Alergias” apresentadas 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, 24 de setembro de 2020.



(André Miguel Rodrigues da Silva)

Agradecimentos

Quero deixar uma palavra de apreço à Farmácia do Bairro e aos seus colaboradores, que tão bem me receberam e acolheram nas suas instalações e que sempre se demonstraram disponíveis para me ajudarem, contribuindo para a minha aprendizagem e formação.

Um agradecimento especial à Dra. Ana Paula Aires, diretora técnica da farmácia, ao Dr. João André, à Dra. Catarina Heleno, à Dra. Camila Carvalho, à Dra. Catarina Rodrigues, à Adriana Ferreira e ao Sr. Fernando, pelos ensinamentos, paciência e disponibilidade que sempre demonstraram, bem como pela simpatia e profissionalismo com que me orientaram no meu estágio curricular.

Um obrigado aos Laboratórios BASI que me receberam e acolheram nas suas instalações e que sempre se demonstraram disponíveis para me ajudarem na minha integração na empresa.

Um agradecimento especial à Dra. Joana Ramos e ao Dr. Eduardo Abrantes pela partilha de conhecimentos, auxílio e disponibilidade que sempre demonstraram ao longo do meu no estágio.

Um agradecimento muito especial à Professora Doutora Olga Borges Ribeiro pela sua orientação, dedicação e disponibilidade para me ajudar e apoiar na elaboração desta minha monografia.

Agradecer a Coimbra, cidade que tão bem me acolheu, e à Universidade de Coimbra, em especial à Faculdade de Farmácia, instituição que foi a minha “casa” ao longo destes 5 anos.

Obrigado a todos os docentes, não docentes e colegas de curso com que me cruzei e que, de certo modo, contribuíram para o meu crescimento, tanto pessoal como profissional, através da partilha de conhecimentos, experiências e aventuras.

Agradecer aos amigos de todos os momentos, nomeadamente, Nisa, Bea, Sandra e Carol, por todas as aventuras passadas juntos, jantares, convívios e, acima de tudo, por todas as gargalhadas partilhadas. Que esta amizade, especial, que Coimbra uniu nunca seja perdida.

Quero agradecer também à Maria, que de forma muito especial, me acompanhou em todos os desafios e aventuras ao longo destes 5 anos.

Por último, mas sem dúvida os mais importantes, quero expressar um agradecimento muito especial aos meus pais, ao meu irmão e toda a família por terem sido o meu porto seguro nos momentos mais difíceis, por me terem acompanhado, de forma ativa, no meu percurso académico e, acima de tudo por me permitirem realizar todos os meus sonhos.

A todos muito, muito obrigado!

Índice

PARTE I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas.....	7
1. Introdução.....	8
2. Farmácia do Bairro.....	8
3. Enquadramento do Estágio.....	9
4. Análise SWOT	10
5. Pontos Fortes.....	11
5.1. Equipa da Farmácia	11
5.2. Prestação de Serviços Farmacêuticos.....	12
5.3. Adaptação Rápida ao Sifarma 2000® e Facilidade de Aprendizagem.....	12
5.4. Comunicação com os Utentes e Profissionais de Saúde	13
6. Pontos Fracos.....	13
6.1. Área da Dermocosmética	13
6.2. Medicamentos Manipulados	14
7. Oportunidades	14
7.1. Realização do Estágio em Período Pandémico	14
7.2. Contacto com os Medicamentos Hospitalares	15
7.3. Formação Constante.....	16
7.4. Maior Intervenção na Saúde Pública	16
8. Ameaças.....	17
8.1. Medicamentos Esgotados, Rateados e Rutura de Stocks.....	17
8.2. Concorrência entre Farmácias e Parafarmácias	18
9. Casos Clínicos.....	19
9.1. Caso Clínico 1	19
9.2. Caso Clínico 2.....	20
10. Conclusão	21

PARTE II - Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Abreviaturas.....	23
1. Introdução.....	24
2. Laboratórios BASI	25
3. Enquadramento do Estágio.....	25
4. Análise SWOT	27
5. Pontos Fortes.....	28
5.1. Integração na Equipa.....	28
5.2. Formação Interna.....	28
5.3. Interação com outros Setores.....	29
5.4. Rápida Aprendizagem e Ganho de Autonomia.....	29
5.5. Aquisição de Conhecimentos e Realização de Tarefas na área do Controlo de Qualidade.....	30
6. Pontos Fracos.....	31
6.1. Duração do Estágio	31
6.2. Componente Laboratorial de Microbiologia	31

7.	Oportunidades	32
7.1.	Formação Teórica Forte e Aplicação de Conhecimentos Adquiridos ao Longo do Curso.....	32
	... 32	
7.2.	Adaptação da Empresa face à Pandemia da COVID-19 permitindo a Realização do Estágio	32
8.	Ameaças.....	33
8.1.	Mercado Competitivo e Concorrente	33
8.2.	Pouca Importância do Farmacêutico no Controlo de Qualidade	34
9.	Conclusão.....	34
	Bibliografia	35

PARTE III - Monografia "Vacinas de DNA e mRNA para Alergias"

	Abreviaturas.....	37
	Resumo	38
	Abstract	39
1.	Introdução.....	40
2.	Prevenção e tratamento de alergias.....	41
2.1.	Conceitos básicos sobre a reação alérgica	41
2.2.	Como se desenvolve uma reação alérgica	43
2.3.	Como se previne e trata uma reação alérgica.....	44
3.	O que são vacinas genéticas?	45
4.	Vacinas de DNA e mRNA aplicadas às alergias.....	47
4.1.	Primeiros estudos com vacinas genéticas	48
4.2.	A resposta imunológica induzida pelas vacinas genéticas	49
5.	Estratégias de otimização da Segurança das vacinas genéticas para alergias.....	52
5.1.	Otimização das vacinas de DNA para alergias	52
5.1.1.	Produção de Moléculas Hipoalergénicas.....	52
5.1.2.	Controlo da produção descontrolada do alérgeno <i>in vivo</i>	54
5.2.	Otimização das Vacinas de mRNA para alergias.....	55
6.	Prevenir reações alérgicas será uma realidade no futuro	56
7.	Principal barreira ao desenvolvimento de vacinas genéticas para alergias	57
8.	Vacinas genéticas para alergias, atualmente, em ensaios clínicos	58
9.	Conclusão.....	62
	Bibliografia	64

PARTE I

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Farmácia do Bairro

farmácia  do bairro

Abreviaturas

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SABA - Solução Antissética de Base Alcoólica

SWOT - *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

I. Introdução

Nós Farmacêuticos somos, desde sempre, agentes de saúde pública.

As áreas de intervenção dos Farmacêuticos são bastantes diversificadas e heterogéneas, pois tanto prestam cuidados de saúde a nível comunitário e hospitalar como contactam diretamente com a distribuição grossista de medicamentos, com a indústria farmacêutica ou com a investigação. Na realidade, toda a nossa atividade profissional tem um objetivo final comum: zelar pelo bem-estar e qualidade de vida do doente em particular e da sociedade em geral.

Sem dúvida que a área profissional que alberga mais Farmacêuticos é a Farmácia Comunitária, área em que o farmacêutico tem um papel bastante interventivo na sociedade.

Para o efeito, o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra contempla no seu plano curricular a realização de um estágio curricular obrigatório em Farmácia Comunitária. Este estágio foi uma mais-valia para o meu futuro profissional, dado que me permitiu adquirir conhecimentos e experiências, diferentes do estudo académico, ministrado na Faculdade.

O desejo de ajudar e apoiar o próximo acompanha-me desde tenra idade, daí que esta experiência próxima com os utentes de uma farmácia tenha sido tão gratificante. Esta oportunidade de realizar estágio curricular em Farmácia Comunitária permitiu-me não só contactar de perto com o público como com todas as rotinas e tarefas diárias inerentes ao serviço.

2. Farmácia do Bairro

A Farmácia do Bairro situa-se no centro do Bairro Norton de Matos, em Coimbra, um local estratégico onde, para além da farmácia, existem pequenos comércio, cafés e pastelarias, uma escola primária e vários locais de estacionamento.

Este antigo bairro da cidade de Coimbra caracteriza-se por ser bastante pacato com ambiente tranquilo e onde a maioria dos habitantes, até há pouco tempo, tinha uma idade igual ou superior a 50 anos. Contudo, ultimamente, este bairro tem vindo a ser habitado por pessoas cada vez mais jovens, pelo que a idade dos utentes da Farmácia do Bairro se situa entre os 20 e os 85 anos, aproximadamente.

Para além da ótima localização e das boas instalações, a Farmácia do Bairro possui uma excelente equipa de colaboradores, caracterizada pela simpatia, dinamismo, espírito de

entreada, profissionalismo, sempre disposta a ajudar o próximo. Esta equipa é, na minha opinião, o pilar mais forte desta farmácia. Consequentemente, os utentes sentem-se acompanhados e veem nestes profissionais um porto de abrigo seguro. A equipa engloba o Dr. João André, o atual proprietário e farmacêutico, a Dra. Ana Paula Aires, diretora técnica da farmácia, a Dra. Catarina Heleno, Camila Carvalho e Catarina Rodrigues, farmacêuticas, o senhor Fernando e a Adriana, técnicos de farmácia e ainda a Catarina Violante a senhora da limpeza.

Em termos de produtos, para além dos medicamentos sujeitos a receita médica, de marca e genéricos, e dos medicamentos não sujeitos a receita médicas, os designados de venda livre, a Farmácia do Bairro oferece ao seu público uma grande variedade de produtos das mais diversas áreas, nomeadamente, dermocosmética, suplementos alimentares, puericultura, cuidados capilares, ortopedia e perfumaria.

Por fim, além destes produtos, a farmácia disponibiliza aos seus utentes vários serviços como medições de glicémia, pressão arterial, colesterol e triglicéridos, administração de vacinas e injetáveis e, ainda, consultas de nutrição e podologia.

3. Enquadramento do Estágio

O meu estágio curricular na Farmácia do Bairro teve início no dia 6 de janeiro de 2020 e, devido à pandemia da COVID-19 que tomou conta do mundo, teve de ser suspenso no dia 16 de março de 2020. Posteriormente, retomei-o no dia 3 de agosto de 2020, tendo terminado no dia 18 de setembro de 2020.

No primeiro dia de estágio comecei por conhecer as instalações e por ser integrado na equipa, com a apresentação a todos os colaboradores da farmácia. A minha orientadora foi a Dra. Ana Paula Aires, no entanto, toda a equipa demonstrou, desde logo, disponibilidade para me auxiliar em tudo o que precisasse. Todos contribuíram para o esclarecimento das minhas dúvidas e todos me transmitiram conhecimentos novos, indispensáveis ao meu bom desempenho profissional.

Nas primeiras três semanas de estágio, realizei tarefas sobretudo ao nível do *back office*: procedi à entrada de encomendas, tanto diárias como instantâneas, realizei o controlo de validades dos medicamentos e produtos de saúde, tratei das reservas de produtos, repus as gavetas com medicamentos e acompanhei o processo envolvido nos receituários, entre outras. Estas atividades permitiram familiarizar-me com o sistema informático Sifarma 2000® e com a localização dos medicamentos e produtos de saúde na farmácia.

Após estas três semanas, continuei a realizar algumas das tarefas mencionadas acima, mas comecei a assistir a alguns atendimentos, de modo a interiorizar o processo, tanto a nível informático como ao nível da postura e da comunicação com o utente. Iniciei ainda a prestação de alguns serviços ao utente como medições de glicémia e de pressão arterial.

Posteriormente, além de auxiliar nas tarefas referidas, comecei a realizar atendimentos, acompanhado por um dos colegas da equipa. Porém, adaptei-me rapidamente ao processo de atendimento ao público e assumi a responsabilidade de o realizar de forma autónoma. Sempre que surgiram dúvidas, esclareci-as junto de um dos colaboradores. Para além do mencionado, este estágio deu-me a oportunidade de participar em várias formações de modo a adquirir mais conhecimentos, tanto teóricos como técnicos, sobre diversas áreas, sobretudo ao nível da dermocosmética, com formações com os delegados das marcas La Roche Posay®, Avene®, Elancyl® e Klorane®, da área dos suplementos alimentares, através do delegado dos Laboratórios PharmaNord que apresentou toda a gama BioActivo® e ainda na área do emagrecimento, pela formação com o delegado dos Laboratórios Forté Pharma.

Tive ainda a oportunidade, enquanto Farmacêutico e profissional de saúde que zela pela saúde e bem-estar da sociedade em geral desde crianças aos mais idosos, de ir à Escola Primária Norton de Matos falar às crianças do 1º ao 4º anos de escolaridade sobre Alimentação Saudável e Obesidade Infantil.

O estágio curricular na Farmácia do Bairro terminou com a elaboração do presente Relatório de Estágio.

4. Análise SWOT

O presente relatório tem por base uma avaliação crítica do estágio em si bem como da minha prestação e dos conhecimentos adquiridos ou aprofundados. Para proceder, então, à avaliação recorri a uma técnica de planeamento estratégico e gestão muito utilizada a nível empresarial, designada de Análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*).

A Análise SWOT permite fazer uma avaliação global das forças, fraquezas, oportunidades e ameaças. Para uma Análise SWOT eficiente é necessário dividir o ambiente em que se realizou o estágio curricular em dois, nomeadamente ambiente externo e ambiente interno. O ambiente externo corresponde a todos os fatores que não se relacionam diretamente comigo mas que tenham interferido com o meu estágio. Assim, o ambiente externo vai definir as ameaças e as oportunidades na Análise SWOT. O ambiente interno, por

sua vez, corresponde aos fatores que se relacionam diretamente comigo. Permite, deste modo, estabelecer os pontos fortes e fracos na Análise SWOT.

Na Tabela I, a seguir apresentada, encontra-se um esquema síntese da Análise SWOT realizada, sendo que cada um dos pontos será devidamente fundamentado.

Tabela I: Análise SWOT - Resumo dos Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades e as Ameaças.

	Pontos Fortes	Pontos Fracos
Ambiente Interno	<ul style="list-style-type: none"> • Equipa da Farmácia. • Prestação de Serviços Farmacêuticos. • Adaptação Rápida ao Sifarma 2000® e Facilidade de Aprendizagem. • Comunicação com os Utentes e Profissionais de Saúde. 	<ul style="list-style-type: none"> • Área da Dermocosmética. • Medicamentos Manipulados.
	Oportunidades	Ameaças
Ambiente Externo	<ul style="list-style-type: none"> • Realização do Estágio em Período Pandémico. • Contacto com os Medicamentos Hospitalares. • Formação Constante. • Maior Intervenção na Saúde da Pública. 	<ul style="list-style-type: none"> • Medicamentos Esgotados, Rateados e Rutura de Stocks. • Concorrência entre Farmácias e Parafarmácias.

5. Pontos Fortes

5.1. Equipa da Farmácia

Um dos pontos fortes do meu estágio curricular na Farmácia do Bairro foi a equipa de profissionais que encontrei e que me acompanhou ao longo de todo o estágio. São, sem dúvida, uma equipa de verdade, com profissionais simpáticos, dedicados aos utentes, sempre dispostos a ajudar, onde reina a boa disposição.

Desde o primeiro dia de estágio que me senti à vontade dentro da equipa de trabalho. Todas as dúvidas e curiosidades que me iam surgindo ao longo dos dias foram esclarecidas da melhor maneira possível.

Assim sendo, considero que este estágio foi bastante enriquecedor a todos os níveis, tanto a nível profissional como pessoal, uma vez que muitos foram os conhecimentos e os

ensinamentos partilhados pelos colegas de equipa que me ajudarão, sem dúvida, no meu futuro profissional.

5.2. Prestação de Serviços Farmacêuticos

A Farmácia do Bairro coloca à disposição dos seus utentes uma série de serviços farmacêuticos, nomeadamente a medição de parâmetros bioquímicos, medição da pressão arterial, administração de injetáveis e vacinas e, ainda, consultas de nutrição e podologia.

Estes serviços são extremamente importantes uma vez que permitem aproximar o Farmacêutico do utente, possibilitando o acompanhamento do seu estado evolutivo de saúde e a avaliação do impacto da medicação prescrita. Considero que os Serviços Farmacêuticos que uma farmácia possui e disponibiliza aos seus utentes é um ponto de diferenciação no sector das Farmácias Comunitárias.

Tive a oportunidade de experienciar e realizar alguns destes serviços, como a medição da pressão arterial e a determinação da glicémia, o que me permitiu contactar de forma mais próxima com os utentes e acompanhar de perto a sua saúde.

5.3. Adaptação Rápida ao Sifarma 2000® e Facilidade de Aprendizagem

Na Farmácia do Bairro o sistema operativo em vigor é o Sifarma 2000®. Ao longo dos cinco anos de curso, o contacto prático com este sistema operativo foi escasso, pelo que a minha destreza a trabalhar com este programa era reduzida.

Assim, o estágio curricular permitiu-me contactar com o Sifarma 2000®, sendo que a minha adaptação a este sistema operativo foi bastante rápida, o que me deu alguma autonomia na realização de certas tarefas como, por exemplo, a realização dos atendimentos e todos os processos relacionados com as encomendas.

De facto, o estágio curricular permitiu-me melhorar as minhas competências relativas ao uso do programa informático Sifarma 2000®, sendo que hoje me sinto totalmente capaz de trabalhar com destreza neste sistema operativo, o que será uma vantagem no meu futuro profissional.

Para além disto, a minha facilidade de aprendizagem permitiu-me passar do *back office* para o *front office* com alguma celeridade, tornando-me num elemento autónomo na realização de algumas tarefas, o que considero que foi uma vantagem, porque aumentou o meu tempo de estágio ao balcão no atendimento ao público, onde é possível aplicar a maioria dos conhecimentos adquiridos ao longo do curso, ou seja, onde nos sentimos realmente Farmacêuticos.

5.4. Comunicação com os Utentes e Profissionais de Saúde

Para além de todas as competências científicas adquiridas ao longo do estágio curricular na Farmácia Comunitária, muitas foram as capacidades pessoais que melhorei e desenvolvi e uma delas foi a comunicação.

Na Farmácia Comunitária é crucial sabermos adaptar o nosso discurso e a forma de comunicar face ao utente que temos perante de nós. Nem todos possuem estudos e pertencem a estratos sociais e culturais diversos, pelo que a mensagem que temos de transmitir a um determinado utente é diferente relativamente a outro, com outro tipo de formação. O mesmo se aplica ao discurso e à comunicação entre colegas e profissionais de saúde, nomeadamente farmacêuticos, técnicos de farmácia, médicos e delegados.

Para além dos elementos diferenciadores mencionados, numa farmácia cujo público-alvo são pessoas de idade avançada, muitas apresentam problemas auditivos e de visão, fatores que constituem barreiras à comunicação. Nestas situações, o discurso também tem de ser adequado, de modo a que a mensagem que pretendemos transmitir seja compreendida pelo utente.

Por conseguinte, ao realizar o estágio curricular na Farmácia do Bairro desenvolvi bastante as minhas capacidades de comunicação e de adaptação do discurso em função do recetor da mensagem, dado que o leque de utentes da farmácia é muito heterogéneo, e assim tive a oportunidade de vivenciar atendimentos com utentes com características muito díspares.

6. Pontos Fracos

6.1. Área da Dermocosmética

No estágio curricular na Farmácia Comunitária, dentro das várias áreas como a puericultura, a ortopedia, a suplementação alimentar, considero que foi na área da dermocosmética que senti maiores dificuldades, no que se respeita ao aconselhamento farmacêutico.

Talvez esta dificuldade se deva ao facto de existirem inúmeras marcas no mercado e dentro de cada marca existirem variadas gamas com vários produtos. Algum do conhecimento teórico e científico por detrás dos produtos de dermocosmética, nomeadamente em termos de composição e formulação, foi adquirido ao longo dos cinco anos do percurso académico, porém, o aconselhamento na área da dermocosmética constituiu uma dificuldade.

Perante este meu ponto fraco, pretendi superar este constrangimento, desde o início do estágio, pelo que me preocupei em esclarecer todas as minhas dúvidas com os colegas de equipa da farmácia, que me transmitiram todos os seus conhecimentos. Participei, também, em várias formações ministradas pelos delegados das várias marcas na farmácia, em regime presencial, e *online*, em sessões síncronas.

Enfim, devido à minha perseverança e à minha sede de saber e de aperfeiçoamento, ultrapassei as dificuldades do início do estágio e hoje possuo muito mais conhecimentos e um maior à vontade para proceder ao aconselhamento farmacêutica na área dermocosmética.

6.2. Medicamentos Manipulados

Sei que existem Farmácias Comunitárias que têm um largo contacto com medicamentos manipulados, no entanto, a Farmácia do Bairro não pertence a esse leque de farmácias pelo que a procura de medicamentos manipulados é bastante reduzida.

Assim, um dos pontos fracos do meu estágio curricular na Farmácia Comunitária foi o escasso contacto com os medicamentos manipulados, dado que durante todo o meu estágio curricular na Farmácia do Bairro só presenciei a preparação, manipulação e registo de dois medicamentos manipulados.

Como tal, sinto que nesta vertente da Farmácia Comunitária não retive todos os conhecimentos necessários pelo que no meu futuro profissional, a nível prático, terei algumas dificuldades na preparação de manipulados.

Contudo, a nível teórico, todos os colegas de equipa se disponibilizaram para esclarecer as minhas dúvidas tendo mesmo simulado vários manipulados de modo a eu experienciar o registo de matérias-primas e do produto acabado, bem como os cálculos envolvidos na determinação do preço de custo do manipulado para o utente.

7. Oportunidades

7.1. Realização do Estágio em Período Pandémico

A realização do estágio durante a pandemia da COVID-19, embora tenha atrasado a finalização do estágio, a meu ver, foi uma oportunidade para as farmácias crescerem, se organizarem e se diferenciarem da concorrência.

Digo isto porque, no início da pandemia, a afluência às farmácias e a procura de medicamentos foi exponencial o que exigiu, por parte da farmácia, uma maior organização a todos os níveis, de modo a satisfazer todas as necessidades dos utentes.

Por outro lado, a pandemia permitiu às farmácias diferenciarem-se, ao criarem soluções para colmatar a procura exagerada de desinfetantes ou para manterem os utentes nos seus domicílios. Refiro-me à produção, na farmácia, de Soluções Antissépticas de Base Alcoólica (SABA) para substituir a escassez do álcool, que se verificou no início da pandemia, e à criação de formas de entrega de medicamentos diferenciadas. Relativamente à entrega de medicamentos, houve duas modalidades: as entregas ao domicílio, em que o utente ligava para a farmácia a pedir a medicação e a farmácia entregava-a no domicílio e as encomendas expresso, em que o utente ligava para a farmácia a pedir a medicação e alguém da família passava no local para levantar a medicação.

Assim, ao ter experienciado e contactado, durante o estágio, com estes processos de adaptação da farmácia à realidade atual e à situação de pandemia, ganhei capacidades que não seria possível adquirir num contexto normal. Considero que, embora seja um problema de saúde pública grave, a pandemia permitiu melhorar e diferenciar o setor da Farmácia Comunitária.

7.2. Contacto com os Medicamentos Hospitalares

Também devido à pandemia da COVID-19 que abalou o mundo, a farmácia e os farmacêuticos comunitários conseguiram contactar com uma realidade até então um pouco desconhecida, nomeadamente os medicamentos hospitalares.

Dada a situação de pandemia, pretendia-se que os doentes passassem o menor tempo possível nos hospitais. Assim, os que realizam medicação hospitalar passaram a poder levantar a sua medicação hospitalar na Farmácia Comunitária, em detrimento do hospital. Esta situação permitiu, tanto aos farmacêuticos comunitários como também a mim, contactar com os medicamentos hospitalares, funcionando a farmácia e os farmacêuticos comunitários como intermediários entre o hospital e o utente.

Considero que este processo de entrega e dispensa de medicamentos hospitalares aos utentes através da Farmácia Comunitária funcionou relativamente bem, pelo que poderá vir a ser uma oportunidade no futuro para as Farmácias Comunitárias, como mais um serviço farmacêutico possível de ser prestado a alguns utentes. Para além de ser uma oportunidade para as Farmácias Comunitárias, é uma vantagem para os doentes que fazem medicação hospitalar, porque, deste modo, não precisam de percorrer quilómetros para levantar a sua medicação, podendo fazê-lo na Farmácia Comunitária mais próxima de si.

7.3. Formação Constante

Os Farmacêuticos são profissionais de saúde que procuram constantemente novos conhecimentos científicos e técnicos de modo a estarem o mais possível atualizados sobre as novidades relativamente aos medicamentos, produtos de saúde e ainda sobre as temáticas que abalam o mundo.

Assim, os Farmacêuticos são muitas vezes autodidatas, mas também participam em formações de diversas áreas, de modo a estarem sempre atualizados a todos os níveis, dado que só assim poderão aconselhar de forma convenientemente e adequada os seus utentes, satisfazendo as suas necessidades.

No meu ponto de vista, é crucial existir uma formação contínua por parte dos Farmacêuticos dado que, atualmente, a ciência evolui de dia para a dia, daí a urgência em acompanhar esta evolução. Um Farmacêutico atualizado possui mais capacidades para realizar um aconselhamento farmacêutico adequado e consciente ao utente em causa, o que permite diferenciar a Farmácia Comunitária e dignificar a profissão.

Neste sentido, o meu estágio curricular na Farmácia do Bairro permitiu-me participar em várias formações que contribuíram de forma muito positiva para o meu futuro porque me permitiram adquirir os mais recentes conhecimentos sobre diversas marcas, produtos de saúde e medicamentos.

7.4. Maior Intervenção na Saúde Pública

O Farmacêutico, enquanto profissional de saúde, tem o dever de zelar pela saúde pública e pelo bem-estar dos seus utentes em particular, mas também da sociedade em geral. Assim, o farmacêutico deve ter um papel interventivo na sociedade de modo a potenciar ao máximo a saúde dos cidadãos.

A Farmácia do Bairro é uma farmácia que, na minha opinião, desempenha um papel bastante interventivo na sociedade, dado que coloca à disposição dos cidadãos diversos serviços farmacêuticos, como medição de parâmetros bioquímicos e pressão arterial, consultas de nutrição e podologia, e ainda realiza diversas atividades de promoção da saúde pública, nomeadamente dando formações aos meninos da Escola Primária sobre diversas temáticas.

Ao longo do meu estágio, tive a oportunidade de executar diversos serviços farmacêuticos e acompanhar de perto a evolução do estado de saúde dos utentes, e tive a oportunidade de ir à Escola Primária vizinha falar às crianças do 1º ao 4º ano de escolaridade

sobre Obesidade Infantil e a Importância da Alimentação Saudável. Nesta palestra apresentámos, de forma didática, os riscos da obesidade infantil, a importância de praticar exercício físico e de ter uma alimentação saudável, com o objetivo de as crianças transmitirem a informação aos seus pais e poderem crescer mais saudáveis.

Considero que o papel interventivo na saúde pública é uma oportunidade de diferenciação das Farmácias Comunitárias, com a criação de diferentes e inovadores serviços farmacêuticos como *checkups* de saúde, consultas de acompanhamento farmacêutico e preparação individualizada da terapêutica.

8. Ameaças

8.1. Medicamentos Esgotados, Rateados e Rutura de Stocks

Os medicamentos esgotados são, sem dúvida alguma, uma grande ameaça para as Farmácias Comunitárias. É um problema bastante recorrente no mercado nacional, dado que existem vários medicamentos esgotados, devido, sobretudo, ao facto de estes serem desviados para mercados mais interessantes do ponto de vista das indústrias farmacêuticas.

Para além dos medicamentos esgotados, temos também, no mercado português, vários medicamentos rateados, ou seja, são medicamentos que existem em pouca quantidade nos armazéns e que são muito procurados pelas farmácias. Como tal, os armazéns limitam o número de unidades cedidas, destes medicamentos, a cada farmácia.

Esta questão é ainda mais preocupante quando se trata de medicamentos de marca que ainda não possuem genérico no mercado nacional nem um medicamento substituível. Refiro-me, por exemplo, a alguns antidiabéticos injetáveis como a Victoza[®] que durante todo o meu estágio esteve praticamente sempre esgotada ou rateada pelo que o número de utentes da Farmácia a realizar esta medicação ainda era considerável o que exigiu uma grande organização por parte da Farmácia, de modo a conseguir satisfazer as necessidades de todos os doentes.

Assim, a questão dos medicamentos esgotados e rateados em Portugal é uma grande ameaça ao normal funcionamento e logística das Farmácias Comunitárias, uma vez que leva a que estas registem a rutura de *stocks* de determinados medicamentos e produtos de saúde, não conseguindo satisfazer as necessidades dos seus utentes. Por outro lado, a rutura de *stocks* torna-se mais difícil de gerir quando um utente toma um determinado medicamento, dá-se bem com ele e pretende continuar a sua terapêutica com esse medicamento específico.

8.2. Concorrência entre Farmácias e Parafarmácias

O setor das Farmácias Comunitárias é muito concorrencial. Esta concorrência deve-se não só às Parafarmácias, como por exemplo a Wells, como também à quantidade de farmácias existentes, neste caso em Coimbra.

Sem dúvida, que a população de uma cidade é bastante maior que a de uma vila ou de uma aldeia, o que requer um maior número de Farmácias Comunitárias para conseguir assegurar o acesso aos medicamentos a toda a população. Todavia, considero que o número de farmácias em Coimbra é um pouco elevado, para além do facto de algumas se encontrarem dentro de espaços comerciais, locais muito requisitados pela população em geral, o que retira alguns utentes às Farmácias Comunitárias de rua.

No que respeita às Parafarmácias, do meu ponto de vista, a maior concorrência verifica-se ao nível dos preços dos medicamentos e produtos de saúde de venda livre, uma vez que a Wells, maior cadeia de Parafarmácias a nível nacional, consegue praticar preços muito mais acessíveis do que as Farmácias Comunitárias em geral. Esta questão prende-se com o facto de as cadeias de Parafarmácias como a Wells, comprarem maiores quantidades de produtos, conseguindo, conseqüentemente, maiores descontos e, deste modo, praticar preços e venda ao público mais baixos do que os praticados pelas Farmácias Comunitárias em geral.

Assim sendo, as Farmácias Comunitárias, como tentativa de combater esta concorrência, sobretudo das Parafarmácias, aderem a grupos de farmácias e compras, de modo a conseguirem ter maiores descontos e assim praticarem preços mais competitivos.

A Farmácia do Bairro, farmácia onde realizei o meu estágio curricular, está inserida num grupo de farmácias familiar precisamente com o objetivo de tentar ao máximo ser competitiva neste mundo concorrencial do mercado farmacêutico.

9. Casos Clínicos

Ao longo do meu estágio curricular na Farmácia Comunitária muitas foram as experiências vividas e algumas delas fizeram-me sentir especial e ficarão para sempre gravadas na minha memória.

De seguida, apresento dois casos clínicos que me marcaram e que pretendo partilhar.

9.1. Caso Clínico I

Este primeiro caso clínico que passo a apresentar aconteceu pouco tempo depois de iniciar os atendimentos ao público e tocou-me de uma forma muito especial.

Tratou-se de uma utente na casa dos 85 anos, viúva, vivia sozinha e apresentava alguns problemas de memória e mobilidade. Dirigia-se pela primeira vez à Farmácia do Bairro. Ao nível da história clínica, apresentava várias patologias, nomeadamente diabetes, hipertensão, hipercolesterolemia e, ainda, problemas intestinais, designadamente, obstipação. Tratava-se de uma doente polimedicada que tomava cerca de 16 medicamentos diários, repartidos ao longo das várias horas do dia.

A senhora revelou-me que muitas vezes não sabia a que horas devia tomar cada um dos medicamentos e, por vezes, esquecia-se se tomava o mesmo medicamento mais do que uma vez ao dia.

Eu, enquanto Farmacêutico, e encarando esta situação, senti-me no dever de ajudar esta utente e assim fiz. A partir do sistema informático Sifarma 2000® imprimi etiquetas de posologia, com as regras estipuladas pelo médico e coleí-as em cada uma das embalagens. Posteriormente, encaminhei a senhora até ao gabinete de utente, onde, muito calmamente, lhe expliquei o objetivo de cada um dos medicamentos e como deveria ser tomado. Separei os medicamentos por saquinhos, consoante a altura do dia em que deveriam ser tomados. Por exemplo, os medicamentos que seriam para tomar ao pequeno-almoço, coloquei-os juntos num saquinho e identifiquei-o, como sendo os medicamentos para tomar após esta refeição.

Perante esta minha dedicação com a utente, a senhora emocionou-se e abraçou-se a mim, confessando que, na farmácia onde costumava ir, nunca ninguém tinha tido esta disponibilidade e atenção com ela. Agradeceu-me muito e desejou-me um futuro muito feliz.

Esta experiência e os agradecimentos da senhora fizeram-me sentir especial e entendi que nós, Farmacêuticos, ao desempenharmos as nossas tarefas com rigor e dedicação aos utentes, dignificamos a nossa profissão e sentimo-nos de coração cheio.

9.2. Caso Clínico 2

O segundo caso clínico que apresento aconteceu antes da pandemia e permitiu-me verificar a importância do aconselhamento farmacêutico no atendimento ao público.

Um jovem casal de namorados, muito apreensivo, dirigiu-se ao balcão de atendimento, solicitando a pílula do dia seguinte. Deparando-me com esta situação, tentei acalmar os jovens para compreender melhor a situação e poder agir em conformidade.

Depois de estarem mais calmos, revelaram-me que ela tomava diariamente a pílula, contraceção oral, mas que tinham tido relações sexuais com preservativo e só no fim se aperceberam que estava perfurado. Assim, através de algumas perguntas dirigidas aos dois, mas sobretudo à jovem, concluí que se encontrava no início da terceira semana da pílula e que a tomava diariamente, sem nunca ter falhado.

Perante este cenário, tranquilizei o casal de namorados, aferindo que, sendo assim, não haveria qualquer risco de uma possível gravidez, sendo que os adverti para a necessidade de manter a toma da pílula sempre certa, e que não valia a pena optar pela pílula do dia seguinte. Referi, ainda, todos os efeitos secundários adversos associados à pílula do dia seguinte e deixei a decisão do lado do casal.

Na sequência das minhas explicações, os jovens optaram por seguir o meu aconselhamento, não tendo tomado a pílula do dia seguinte.

Face esta experiência, mais comum do que eu imaginava, apercebi-me do quão essencial e importante a todos os níveis é o aconselhamento farmacêutico para a segurança e saúde dos cidadãos.

10. Conclusão

A realização deste estágio curricular na Farmácia do Bairro foi, sem dúvida, uma mais-valia no meu percurso académico, dado que me permitiu ganhar bastante experiência prática, impossível de adquirir nas aulas da Faculdade, onde os conhecimentos adquiridos são fundamentalmente teóricos.

Durante o estágio, o saber adquirido permitiu-me aumentar os meus conhecimentos tanto científicos como técnicos. Para além disso, todas as tarefas realizadas e experiências vividas serão uma vantagem para o meu futuro profissional visto que, se no futuro ingressar neste sector da Farmácia Comunitária, terei, sem dúvida, bases mais sólidas que permitirão adaptar-me rapidamente ao mundo profissional.

Para além das capacidades científicas e técnicas adquiridas, que contribuirão de forma inegável para o meu percurso profissional, este estágio permitiu-me desenvolver competências a nível pessoal, nomeadamente a minha comunicação e interação com colegas. Possibilitou-me ainda reconhecer a importância de centrar a minha atenção no doente, de modo a otimizar a sua qualidade de vida e a sua saúde. Nunca esquecerei que o Farmacêutico é o profissional de saúde mais próximo dos cidadãos e a quem eles recorrem sempre que necessitam de algo.

Concluindo, a oportunidade de realizar o estágio na Farmácia do Bairro, que o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra me proporcionou, permitiu-me crescer tanto a nível pessoal como profissional, o que será uma vantagem para o meu futuro enquanto Farmacêutico.

PARTE II

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

Laboratórios BASI



Abreviaturas

FC - Folhas de Cálculo

IJM - *Injectables Manufacturing*

ITA - Instruções Técnicas de Análise

LSM - *Liquid and Semi-Solid Manufacturing*

MA - Material de Acondicionamento

MP - Matérias-Primas

PA - Produto Acabado

RAR - Relatório de Redução de Análise

RE - Relatório de Estabilidade

SPEC - Especificações de Produto

SWOT - *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

I. Introdução

Nós Farmacêuticos somos, desde sempre, agentes de saúde pública.

As áreas de intervenção dos Farmacêuticos são bastantes diversificadas e heterogêneas, pois tanto prestam cuidados de saúde a nível comunitário e hospitalar como contactam diretamente com a distribuição grossista de medicamentos, com a indústria farmacêutica ou com a investigação. Na realidade, toda a nossa atividade profissional tem um objetivo final comum: zelar pelo bem-estar e qualidade de vida do doente em particular e da sociedade em geral.

Por esta e outras razões, esta profissão sempre me cativou, contudo não conhecia todas as áreas profissionais. O meu percurso académico ajudou-me bastante, dado que ao longo do curso fui descobrindo várias áreas muito interessantes. Destaco a área da tecnologia farmacêutica, muito associada à indústria farmacêutica, que me deu a conhecer processos de fabrico, todas as variáveis a controlar e o apertado controlo de qualidade dos produtos.

Assim, quando me foi dada a oportunidade de realizar estágio curricular em indústria farmacêutica, não tive dúvidas. Pretendia adquirir mais conhecimentos nesta área profissional e nada melhor do que ter a oportunidade de estagiar para contactar com as dinâmicas internas da indústria farmacêutica. Deste modo, mesmo em tempo de pandemia, tive a oportunidade de integrar o Departamento de Controlo de Qualidade dos Laboratórios BASI.

O Departamento de Controlo de Qualidade numa indústria farmacêutica desempenha um papel muito importante, pois garante que todas as matérias-primas, material de acondicionamento e produtos acabados têm qualidade, respeitando todas as especificações estabelecidas pelas autoridades regulamentares. A minha integração neste Departamento, a meu ver, foi uma mais-valia porque me permitiu desenvolver várias capacidades e adquirir conhecimentos que serão importantes no meu futuro profissional.

2. Laboratórios BASI

Os Laboratórios BASI são uma indústria farmacêutica com 60 anos de existência, dedicada ao fabrico de medicamentos, dispositivos médicos, suplementos alimentares e cosméticos. Os Laboratórios BASI são reconhecidos como uma empresa de referência no seu sector de atividade, apostando na consolidação de uma imagem que reflete os seus valores e princípios¹.

Atualmente, as instalações dos Laboratórios BASI localizam-se no Parque Industrial Manuel Lourenço Ferreira, em Mortágua. Neste parque encontramos duas unidades de produção, nomeadamente o *Liquid and Semi-Solid Manufacturing* (LSM) e *Injectables Manufacturing* (IJM).

A unidade LSM contém um armazém, a unidade de produção de formas líquidas e semissólidas, a direção técnica e o setor do controlo de qualidade, comum às duas unidades. Por sua vez, a unidade IJM contém, também, um armazém, a unidade de produção de injetáveis, quer de pequeno quer de grande volume, uma cantina para os funcionários e, ainda, os restantes setores tais como a administração, o setor dos assuntos regulamentares, a logística e o *market access*.

A principal missão dos Laboratórios BASI é desenvolver, fabricar, comercializar e distribuir, a nível global, medicamentos e soluções terapêuticas marcadas pela excelência e qualidade. Assim, os Laboratórios BASI têm como principais valores e princípios a Qualidade, a Flexibilidade, a Inovação Tecnológica e a Competitividade, com o objetivo final de se tornar no maior fabricante nacional de medicamentos e numa referência europeia¹.

Com efeito, fui integrado no departamento de Controlo de Qualidade de uma indústria farmacêutica ambiciosa, preocupada com o seu impacto no ambiente, que pretende fazer melhor todos os dias, focada na garantia da qualidade e na melhoria contínua.

3. Enquadramento do Estágio

Mesmo estando a atravessar uma época de pandemia da COVID-19, o meu estágio curricular no Departamento de Controlo de Qualidade dos Laboratórios BASI iniciou-se no dia 11 de maio de 2020 e terminou no dia 31 de julho de 2020.

No primeiro dia de estágio comecei por conhecer as instalações dos Laboratórios BASI. De seguida, tive a oportunidade de participar em duas ações de formação, uma de

integração na empresa, conhecendo a história, valores e objetivos dos laboratórios BASI, e outra de higiene e segurança no trabalho.

Dentro do Departamento de Controlo de Qualidade, fui orientado sobretudo pela Dra. Joana Ramos e pelo Dr. Eduardo Abrantes e tive a oportunidade de contactar e experienciar vários setores: o setor do Suporte Técnico, onde estive a maior parte do tempo do meu estágio e os setores da Farmacoteca e do Laboratório de Físico-Química, onde permaneci cerca de uma semana, respetivamente.

No setor do Suporte Técnico, executei diversas tarefas, nomeadamente a criação de Templates, elaboração de Relatórios de Redução de Análise (RAR), Relatórios de Estabilidade (RE), conceção de Folhas de Cálculo (FC), de Instruções Técnicas de Análise (ITA's) e, ainda, Especificações (SPEC's) de Produto Acabado (PA), Matérias-Primas (MP) e Material de Acondicionamento (MA).

No setor da Farmacoteca, tive a oportunidade de contactar um pouco com a dinâmica dos armazéns dos Laboratórios BASI, uma vez que este setor se encontra localizado nestas áreas. Aqui, procedi ao tratamento, identificação, registo e acondicionamento de amostras de retenção, que correspondem a amostras de produtos acabados que são retidas até um ano, para além do prazo de validade.

As amostras de retenção têm de ser identificadas e registadas no sistema informático, para posteriormente serem acondicionadas em caixas e paletes. Depois, são armazenadas na Farmacoteca.

Por fim, na última semana do meu estágio foi-me permitido experienciar as atividades executadas no Laboratório de Físico-Química do Departamento de Controlo de Qualidade. Nesta semana executei, a nível prático, ensaios descritos nas ITA's, como medições de pH, doseamentos de princípios ativos e conservantes e, ainda, inspeção visual dos produtos, para controlo de qualidade de produtos acabados injetáveis, tanto de pequeno como de grande volume.

O estágio curricular nos Laboratórios BASI terminou com a elaboração do presente Relatório de Estágio.

4. Análise SWOT

O presente relatório tem por base uma avaliação crítica do estágio em si, bem como da minha prestação e dos conhecimentos adquiridos ou aprofundados. Para proceder à avaliação, recorri a uma técnica de planeamento estratégico e gestão muito utilizada a nível empresarial, designada de Análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*).

A Análise SWOT permite fazer uma avaliação global das forças, fraquezas, oportunidades e ameaças. Para uma Análise SWOT eficiente é necessário dividir o ambiente em que se realizou o estágio curricular em dois, nomeadamente ambiente externo e ambiente interno. O ambiente externo corresponde a todos os fatores que não se relacionam diretamente comigo mas que tenham interferido com o meu estágio. Assim, o ambiente externo vai definir as ameaças e as oportunidades na Análise SWOT. O ambiente interno, por sua vez, corresponde aos fatores que se relacionam diretamente comigo. Permite, deste modo, estabelecer os pontos fortes e fracos na Análise SWOT.

Na Tabela I, a seguir apresentada, encontra-se um esquema síntese da Análise SWOT realizada, sendo que cada um dos pontos será devidamente fundamentado.

Tabela I: Análise SWOT - Resumo dos Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades e as Ameaças.

	Pontos Fortes	Pontos Fracos
Ambiente Interno	<ul style="list-style-type: none">• Integração na Equipa.• Formação Interna.• Interação com outros Setores.• Rápida Aprendizagem e Ganho de Autonomia.• Aquisição de Conhecimentos e Realização de Tarefas na área do Controlo de Qualidade.	<ul style="list-style-type: none">• Duração do Estágio.• Componente Laboratorial de Microbiologia.
	Oportunidades	Ameaças
Ambiente Externo	<ul style="list-style-type: none">• Formação Teórica Forte e Aplicação de Conhecimentos Adquiridos ao Longo do Curso.• Adaptação da Empresa face à Pandemia da COVID-19 permitindo a Realização do Estágio.	<ul style="list-style-type: none">• Mercado Competitivo e Concorrente.• Pouca Importância do Farmacêutico no Controlo de Qualidade.

5. Pontos Fortes

5.1. Integração na Equipa

Desde o início do meu estágio que me preocupei em integrar-me na equipa de trabalho, pois considero que, ao estar inserido e mantendo uma boa relação com todos os colegas, tornamos a equipa mais produtiva e eficiente.

Assim, sinto que me integrei de forma natural numa equipa jovem, multidisciplinar e empenhada, onde me senti acompanhado por todos os colegas de trabalho, sempre prontos a ajudar e auxiliar a qualquer instante em tudo o que precisasse.

Por outro lado, ao estar integrado na equipa, tive por objetivo marcar a minha presença, não como um mero aprendiz, mas como uma pessoa ativa e disponível, demonstrando, constantemente, uma enorme vontade de ajudar o próximo em tudo o que fosse preciso e estivesse ao meu alcance.

5.2. Formação Interna

Os Laboratórios BASI, com já referido, são uma indústria farmacêutica focada na melhoria contínua pelo que aposta na formação dos seus colaboradores. Após cada formação, todos os colaboradores elaboram um pequeno teste, de modo a permitir avaliar o desempenho da formação.

Como tal, logo no meu primeiro dia de estágio, tive a oportunidade de presenciar e assistir a duas formações com objetivos mais gerais: uma formação inicial de integração e contextualização da empresa e uma formação relativa à higiene e segurança no trabalho. Posteriormente, no Departamento de Controlo de Qualidade, a minha formação foi constante. Realizei formações mais teóricas, como por exemplo, a dos Procedimentos Técnicos Operacionais e do Uso e Pesquisa nas Farmacopeias e formações mais práticas, como por exemplo, a formação na Plataforma Eazylims. A Plataforma Easylims é uma base de trabalho criada pelos Laboratórios BASI dirigida para o Departamento do Controlo de Qualidade de modo a facilitar a organização deste setor.

Eu, mesmo sendo estagiário, fui submetido, tal como os colaboradores, aos testes após cada formação. Assim sendo, ao longo do estágio, através de todas as formações a que tive a possibilidade de presenciar, adquiri diversos conhecimentos, tanto teóricos como práticos, que me ajudaram a perceber as dinâmicas tanto do controlo de qualidade como dos Laboratórios BASI no geral.

5.3. Interação com outros Setores

Um das vantagens de ter realizado estágio no Departamento de Controlo de Qualidade foi o facto de ter interagido com diversos setores dos Laboratórios BASI, tais como os sectores da produção, do armazém e dos assuntos regulamentares.

Realmente, o Departamento de Controlo de Qualidade mantém um contacto muito próximo e diário com os setores mencionados, dado que todas as MP e MA que chegam ao armazém têm de ser amostradas para que possam ser analisadas pelos laboratórios do Controlo de Qualidade, de modo a verificar se cumprem com as especificações estabelecidas e avaliar a sua qualidade. O mesmo acontece com o PA, também este é amostrado para sofrer análises laboratoriais, de modo a garantir que todos os produtos produzidos pelos Laboratórios BASI cumprem com os requisitos estabelecidos, no dossiê do produto, e apresentam a qualidade desejada.

Deste modo, consegui contactar com vários setores da empresa e com diversos profissionais, desde operadores de produção e logísticos a profissionais qualificados nas mais diversas áreas. Este contacto próximo permitiu-me conhecer um pouco os procedimentos realizados nos outros setores, compreender a necessidade da comunicação e da transmissão de dados e informação entre departamentos. Tudo isto permitiu-me desenvolver a capacidade de comunicação com os colegas de equipa.

5.4. Rápida Aprendizagem e Ganho de Autonomia

No decorrer do estágio tive o privilégio de executar diversas tarefas no âmbito do Controlo de Qualidade.

Como referi, senti-me sempre acompanhado pelos meus orientadores e colegas de equipa. No entanto, estes também tinham tarefas a executar e nem sempre tinham disponibilidade para me auxiliar em tudo o que precisava, facto que promoveu a minha autonomia. Embora as empresas, atualmente, visem o trabalho em equipas multidisciplinares, cada trabalhador deve ter facilidade em aprender e ser autónomo na execução das suas tarefas, em prol dos objetivos comuns da equipa de trabalho e da empresa.

Efetivamente, ao realizar muitas tarefas, senti a necessidade de ser autodidata, ou seja, de aprender sozinho e ser autónomo na execução das tarefas. Fui, desde sempre, capaz de aprender e assimilar informação nova de forma rápida e intuitiva, o que neste estágio constituiu uma mais-valia. Estas minhas capacidades permitiram-me aprender muito mais e ser mais independente na execução das tarefas que me foram impostas.

5.5. Aquisição de Conhecimentos e Realização de Tarefas na área do Controlo de Qualidade

Durante os três meses de estágio, realizei várias tarefas no Departamento do Controlo de Qualidade e tive a oportunidade de vivenciar e contactar com vários setores dentro do Controlo de Qualidade.

Inicialmente, no setor do Suporte Técnico, realizei várias tarefas e adquiri vários conhecimentos direcionadas sobretudo à elaboração de relatórios, templates, folhas de cálculo, instruções de análise, entre outros. Neste período, desenvolvi capacidades técnicas, capacidades em *Excel* e capacidades de síntese. Para além das capacidades, adquiri diversos conhecimentos, de salientar a área das Estabilidades de Produtos e nas Especificações tanto de MP como de MA e PA, que devem respeitar as Farmacopeias e o que se encontra declarado no dossiê de produto.

Experienciei o setor Farmacoteca, pertencente ao departamento do Controlo de Qualidade, que corresponde a uma secção do armazém em que ficam retidas amostras do produto acabado por um período de um ano, para além do prazo de validade marcado na embalagem secundária. O objetivo destas amostras é a realização de análises em caso de suspeita de alguma inconformidade com o produto em causa. Nesta semana de estágio, aprendi toda a logística envolvida por detrás das amostras de retenção, desde a identificação das amostras ao acondicionamento e ao registo das mesmas nas plataformas Q-Pulse e Eazylims. Confirmei a necessidade de registar tudo o que é feito em qualquer setor e departamento da indústria farmacêutica bem como da transmissão da informação, sobretudo a nível informático, aos colegas de trabalho.

Por último, contactei de perto com as rotinas dos Laboratórios de Análises de Físico-Química, sobretudo com as rotinas de análise de produtos acabados injetáveis, tanto de pequeno como de grande volume. Realizei vários ensaios, nomeadamente ensaios de identificação de princípios ativos e impurezas, doseamentos, inspeção visual de ampolas e determinações de pH, densidades e viscosidades. Assim neste período, adquiri conhecimentos práticos direcionados aos protocolos e procedimentos analíticos de produtos acabados injetáveis, bem como conhecimentos relativos a alguns equipamentos do laboratório, fundamentais na realização de certos ensaios analíticos.

6. Pontos Fracos

6.1. Duração do Estágio

Um dos pontos fracos que pretendo referenciar foi a duração do meu estágio nos Laboratórios BASI. Devido à pandemia da COVID-19, o meu estágio teve menos duas semanas de duração que o determinado previamente. Contudo, sinto-me “felizardo” por, mesmo em estado de pandemia, ter tido a oportunidade de realizar o estágio.

Refiro-me à duração do estágio, sobretudo porque considero que para ter uma visão mais aprofundada do Departamento do Controlo de Qualidade era necessário mais tempo de estágio. Ao longo deste período, experienciei três setores com já referido, nomeadamente o Suporte Técnico, a Farmacoteca e os Laboratórios de Físico-Química. No entanto, houve outros setores que não tive a oportunidade de experienciar, dos quais destaco o Laboratório de Microbiologia, o Laboratório de Cromatografia e o Laboratório de Validação de Métodos Analíticos.

Assim, se a duração dos estágios curriculares em Indústria Farmacêutica tivessem uma duração de, pelo menos, quatro meses, permitiam aos estudantes ter contacto com mais sectores da empresa e adquirir uma visão mais profunda desta saída profissional.

6.2. Componente Laboratorial de Microbiologia

Gostaria de ter tido contacto com o Laboratório de Microbiologia, do Departamento de Controlo de Qualidade dos Laboratórios BASI.

Sei que o Laboratório de Microbiologia é bastante diferente do Laboratório de Físico-Química, desde as regras de funcionamento ao tipo de ensaios que realiza. Neste setor do Controlo de Qualidade, realizam-se ensaios à esterilidade dos produtos acabados injetáveis, à qualidade da água usada na preparação dos injetáveis e ainda a monitorização ambiental das salas de produção, tanto da unidade LSM como também da unidade IJM.

Gostaria de ter experienciado o Laboratório de Microbiologia, de modo a conseguir adquirir capacidades mais práticas nesta área, uma vez que este setor do Departamento de Controlo de Qualidade tem por base o enunciado anteriormente e algumas das cadeiras que tive ao longo do meu percurso académico, sobretudo Microbiologia.

7. Oportunidades

7.1. Formação Teórica Forte e Aplicação de Conhecimentos Adquiridos ao Longo do Curso

Ao longo dos cinco anos do meu percurso académico adquiri um leque de conhecimentos e capacidades que me servirão de base em qualquer área profissional que venha a exercer no futuro. O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, pelo menos na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, aposta fortemente no desenvolvimento de conhecimentos teóricos.

Na minha opinião, isto é uma mais-valia e uma oportunidade para o futuro, dado que neste estágio curricular, todas as capacidades adquiridas ao longo do curso me permitiram adaptar rapidamente à área da Indústria Farmacêutica. Por outro lado, senti que, em certa medida, ao realizar certas tarefas, embora os procedimentos operacionais e as instruções de trabalho fossem próprias de cada empresa, consegui aplicar muitos dos meus conhecimentos.

Assim sendo, ao realizar este estágio curricular, percebi que o meu percurso académico me forneceu várias ferramentas e capacidades teóricas que poderei aplicar da melhor forma possível, na minha vida profissional independentemente da área de trabalho, de modo a desempenhar as minhas tarefas e obrigações de forma exemplar como Farmacêutico.

7.2. Adaptação da Empresa face à Pandemia da COVID-19 permitindo a Realização do Estágio

Os Laboratórios BASI, enquanto instituição do setor da Saúde desde o início da pandemia da COVID-19 que abalou o mundo, desempenharam um papel proactivo na defesa da saúde dos seus colaboradores.

Assim, quando surgiram os primeiros casos da infeção em Portugal, os Laboratórios BASI introduziram medidas preventivas, como a utilização obrigatória de máscara por todos os colaboradores da empresa e a medição da temperatura corporal diária, antes da entrada nas instalações da empresa.

Estas medidas introduzidas nos Laboratórios BASI foram fundamentais para prevenir o surgimento de focos de infeção na empresa, sendo que até ao meu último dia de estágio, 31 de julho de 2020, num universo de cerca de 350 trabalhadores, nenhum tinha apresentado sintomas da infeção. Estas medidas permitiram que a empresa nunca tivesse fechado, continuando todos os dias o seu trabalho, de forma responsável, fornecendo produtos de saúde e medicamentos de qualidade.

Por outro lado, esta rápida e eficaz adaptação da empresa ao cenário de pandemia, deu-me a possibilidade de realizar o meu estágio curricular na Indústria Farmacêutica, permitindo-me experienciar e vivenciar esta área profissional. Sou um privilegiado, porque várias indústrias farmacêuticas, deparando-se com o avançar da pandemia, cancelaram os seus acordos de estágios curriculares com alunos da minha instituição de ensino.

8. Ameaças

8.1. Mercado Competitivo e Concorrente

Os Laboratórios BASI são uma indústria farmacêutica focada na produção e comercialização de medicamentos, sobretudo genéricos, suplementos alimentares, dispositivos médicos e cosméticos.

Todo o setor farmacêutico é um mercado muito competitivo e concorrente, visto que existem muitas indústrias farmacêuticas, tanto em Portugal como no resto do mundo, e a grande maioria dedica-se à produção de medicamentos genéricos.

Assim sendo, uma empresa como os Laboratórios BASI para ser concorrente e competitiva no mercado, tem de produzir os seus produtos com o menor custo possível, de modo a conseguir introduzir o medicamento, neste caso genérico, no mercado, ao menor preço possível, de modo a ser vantajoso para o utente, levando-o a optar por medicamentos genéricos BASI e mesmo assim a empresa obter lucro.

Como tal, as indústrias farmacêuticas criam estratégias a fim de se tornarem empresas competitivas no sector farmacêutico. Optam por matérias-primas e materiais de acondicionamento com qualidade, a menor preço, trabalham com empresas localizadas, essencialmente na Europa de Leste, onde a mão-de-obra é mais barata, sendo que estas produzem os produtos BASI. Os Laboratórios BASI otimizam os recursos, tanto humanos como materiais bem como os processos de fabrico, de modo a aumentarem o rendimento da empresa e minimizarem os desperdícios, sem descurarem a qualidade dos produtos.

Com efeito, as Indústrias Farmacêuticas têm de ser flexíveis para se adaptarem da melhor forma possível a um mercado cada vez mais exigente, competitivo e concorrente, de modo a se diferenciarem, para que possam crescer e obter lucros.

8.2. Pouca Importância do Farmacêutico no Controlo de Qualidade

A realização do estágio curricular no Departamento de Controlo de Qualidade dos Laboratórios BASI permitiu-me ter a percepção de que o número de colaboradores, farmacêuticos, a trabalharem neste sector da indústria farmacêutica é relativamente baixo.

Assim, uma das ameaças que pretendo vincar neste relatório é a pouca importância do Farmacêutico no Controlo de Qualidade, dado que no meu estágio, neste departamento, éramos cinco farmacêuticos, num leque de 60 colaboradores. A maioria dos farmacêuticos centrava-se nos setores do Suporte Técnico e da Direção Técnica, pois o diretor técnico de uma indústria farmacêutica tem de ser obrigatoriamente um Farmacêutico.

Considero que este pouco interesse em colaboradores farmacêuticos se prende com o facto de a mão-de-obra farmacêutica ser mais cara em detrimento de outras. Por exemplo, os Laboratórios tanto de Físico-Química como de Microbiologia tinham como colaboradores analistas, técnicos de laboratório, licenciados em Bioquímica, entre outros.

Do ponto de vista da indústria, esta aposta em trabalhadores menos qualificados é uma vantagem, porque realizam o trabalho a menor custo e, numa indústria, quanto menores os custos maiores os lucros.

Contudo, para um futuro Farmacêutico como eu, considero este ponto uma grande ameaça para o meu futuro profissional. Neste mundo da indústria farmacêutica, as oportunidades de trabalho para Farmacêuticos são inferiores às que tinha perspectivado.

9. Conclusão

A realização deste estágio curricular nos Laboratórios BASI foi, sem dúvida alguma, uma mais-valia no meu percurso académico, dado que me permitiu contactar e conhecer pormenorizadamente um pouco do mundo da indústria farmacêutica.

Foram muitos os conhecimentos adquiridos ao longo destes três meses de estágio, que me permitiram aumentar os meus conhecimentos e capacidades. Para além disso, todas as tarefas realizadas e experiências vividas serão uma vantagem para o meu futuro profissional, visto que, se no futuro ingressar numa indústria farmacêutica, terei mais bases do que outros colegas que não tiveram a oportunidade de realizar este tipo de estágio.

Para além das capacidades científicas e técnicas adquiridas que contribuirão de forma importante no meu percurso profissional, este estágio permitiu-me desenvolver, também, competências a nível pessoal, nomeadamente a minha comunicação e interação com colegas,

cimentar a importância do trabalho em equipa e, ainda, o espírito de ajuda que deve existir quando trabalhamos em equipa de modo a que consigamos, juntos, atingir os objetivos estabelecidos.

Concluindo, a oportunidade de realizar o estágio nos Laboratórios BASI que o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra me proporcionou, permitiu-me crescer tanto a nível pessoal como profissional, o que será uma vantagem para o meu futuro enquanto Farmacêutico.

Bibliografia

1. **Laboratórios Basi - your health, our world** - [Acedido a 25 de julho de 2020]. Disponível em: <https://www.basi.pt/>

PARTE III

MONOGRAFIA

“Vacinas de DNA e mRNA para Alergias”



Abreviaturas

CD - Células Dendríticas

DNA - Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)

EAACI - European Academy of Allergy and Clinical Immunology (Academia Europeia da Alergia e Imunologia Clínica)

IFN- γ - Interferão Gama

IgE - Imunoglobulina E

IgG - Imunoglobulina G

IgG_{2a} - Imunoglobulina G da subclasse 2a

IL-10 - Interleucina 10

LAMP - Lysosomal-associated membrane protein (Proteína da Membrana do Lisossoma)

MHC - Major histocompatibility complex (Complexo Principal de Histocompatibilidade)

mRNA - Messenger RNA (RNA mensageiro)

RNA - Ribonucleic Acid (Ácido Ribonucleico)

Th1 - Células T helper 1 (Células T helper do tipo 1)

Th2 - Células T helper 2 (Células T helper do tipo 2)

TLR-9 - Toll-like receptor 9 (Recetor do tipo Toll 9)

Treg - Células T reguladoras

UTR - Untranslated Regions (Regiões não codificáveis)

VLP - Virus-like Particle (Partícula tipo Vírus)

WAO - World Allergy Organization (Organização Mundial da Alergia)

Resumo

A indução de uma resposta imunológica específica aos alérgenos, através da administração por via subcutânea ou sublingual, de fragmentos ou estratos dos alérgenos tem demonstrado ser uma estratégia eficaz no tratamento de reações alérgicas do tipo I.

No entanto, associado a esta estratégia, tem-se observado o aparecimento de reações adversas, algumas bastante graves, como o choque anafilático. Por esta razão, o grupo de pessoas disponíveis e recetivas a esta estratégia terapêutica é bastante reduzida.

A comunidade científica está consciente que é necessário desenvolver novas ferramentas, com o objetivo de tentar controlar o aumento do número de doentes alérgicos que se tem vindo a assistir nos últimos anos.

Uma das estratégias em grande desenvolvimento são as vacinas genéticas onde se incluem vacinas de DNA e as vacinas de RNA mensageiro (mRNA). O fundamento desta tecnologia farmacêutica baseia-se na síntese do alérgeno *in situ* utilizando a maquinaria celular do indivíduo, permitindo a transcrição e tradução das sequências de DNA ou mRNA originando o alérgeno alvo.

Assim sendo, as vacinas genéticas fornecem ao organismo humano a possibilidade de este sintetizar o alérgeno num estado puro e em quantidade controlada. Esta estratégia tem demonstrado capacidade de modular a resposta imunológica aos alérgenos, nomeadamente, redirecionando a resposta para uma resposta mais balanceada no sentido de aumentar a produção de células T helper do tipo 1 (Th1) e diminuir as células T helper do tipo 2 (Th2), células inicialmente envolvidas nas reações alérgicas.

A indução deste tipo de resposta imune no organismo, conseguido com o recurso às vacinas genéticas, vai ao encontro da resposta imune típica de um indivíduo não alérgico, pelo que as vacinas genéticas poderão vir a ser uma estratégia importante no controlo de reações alérgicas do tipo I ao longo do tempo.

Deste modo, esta monografia tem por finalidade fornecer uma visão sobre o potencial das vacinas genéticas no combate às alergias, bem como apresentar o que está, atualmente, em desenvolvimento e em ensaios clínicos nesta área.

Palavras-Chave: Alérgeno; Células T helper 1; Células T helper 2; Imunoglobulina E; Processo Inflamatório; Reação alérgica; Terapêutica; Vacinas genéticas; Vacinas de DNA; Vacinas de mRNA.

Abstract

The induction of a specific immune response to allergens, by subcutaneous or sublingual administration of allergen fragments or strata, has proved to be an effective strategy in the treatment of type I allergic reactions.

However, associated with this strategy, adverse reactions have been observed, some quite serious, such as anaphylactic shock. For this reason, the group of people available and receptive to this therapeutic strategy is quite small.

The scientific community is aware that it is necessary to develop new tools, in order to try to control the number of allergic patients that has been increasing in recent years.

One of the strategies under development is genetic vaccines, which include DNA vaccines and messenger RNA (mRNA) vaccines. This pharmaceutical technology is based on the synthesis of the allergen in situ using the individual's cellular machinery, allowing the transcription and translation of the DNA or mRNA sequences originating the target allergen.

Therefore, genetic vaccines provide the human organism with the possibility of synthesizing the allergen in a pure state and in a controlled quantity. This strategy has demonstrated the ability to modulate the immune response to allergens, namely, redirecting the response to a more balanced response in order to increase the production of type I helper T cells (Th1) and decrease type 2 helper T cells (Th2), which were initially involved in allergic reactions.

The induction of this type of immune response in the body, achieved with the use of genetic vaccines, meets the typical immune response of a non-allergic individual, so genetic vaccines may be an important strategy to control type I allergic reactions over time.

Thus, this monograph aims to provide an insight into the potential of genetic vaccines in combating allergies, as well as to present what is currently under development and clinical trials in this area.

Keywords: Allergen; T helper 1 Cells; T helper 2 Cells; Immunoglobulin E; Inflammatory Process; Allergic Reaction; Therapy; Genetic Vaccines; DNA Vaccines; RNA Vaccines.

I. Introdução

Tem havido um crescimento na prevalência de alergias e doenças alérgicas desde a revolução industrial. Consequentemente, nos dias de hoje, o número de indivíduos alérgicos e o número de diferentes alergias é substancialmente maior.

Atualmente, a nível mundial, a percentagem de indivíduos em idade escolar que é sensível a pelo menos um alérgeno ronda os 50%. Na Europa, 150 milhões de europeus sofrem de pelo menos uma doença alérgica crónica (Figura 1)¹.

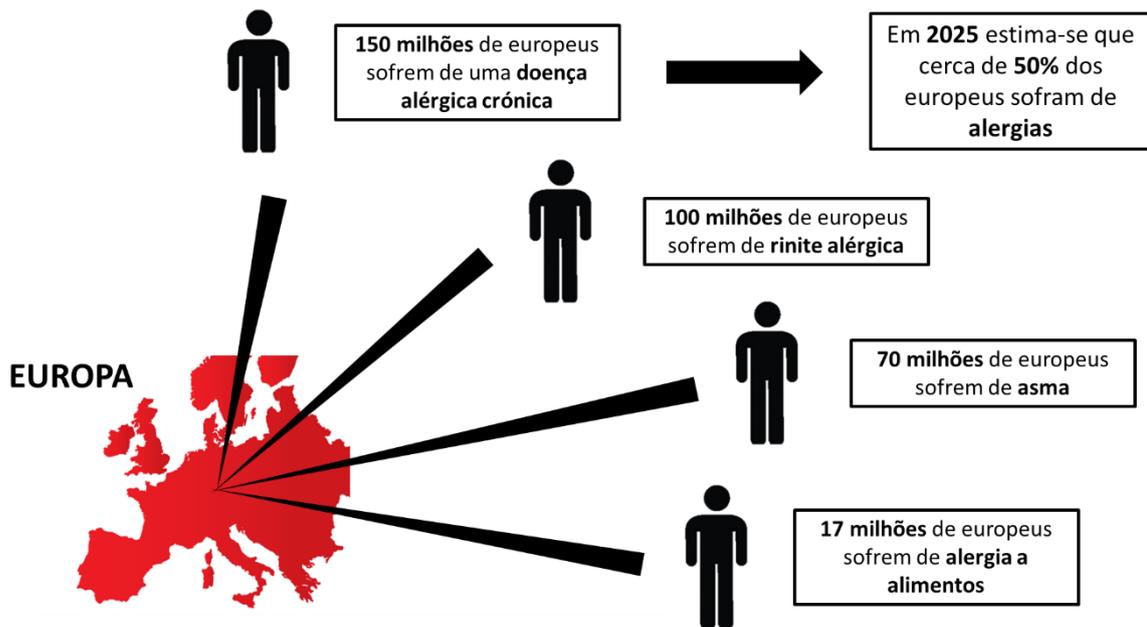


Figura 1: Epidemiologia e prevalência dos diferentes tipos de alergias na Europa. Imagem própria.

Existem diversas teorias para este incremento, no entanto, uma das mais bem aceites é a “Teoria da Higiene”. Esta teoria defende que as condições de vida em grande parte do mundo, sobretudo a nível urbano, são extremamente limpas e estéreis, o que inibe o contacto do indivíduo, desde criança, com alérgenos e micróbios, impedindo assim o “treino” do sistema imunitário. Assim sendo, o sistema imune é incapaz de diferenciar substâncias inofensivas de substâncias prejudiciais ao organismo².

Esta teoria é suportada pelo facto de, no início da vida, crianças expostas a um ambiente agrícola, nomeadamente com animais, feno e leite não pasteurizado, apresentarem frequências menores de alergias e asma alérgica³.

É importante perceber que existem diversos tipos de doenças alérgicas, onde se inclui, entre outras, a rinite alérgica, alergia a medicamentos e a alimentos e, ainda, a asma alérgica.

A nível global, estima-se que 4 em cada 10 indivíduos possui imunoglobulinas do tipo E (IgE), imunoglobulina chave nas alergias para alérgenos ambientais, o que é indicativo de que, aproximadamente, 10 a 30% da população mundial possui rinite alérgica⁴.

As reações adversas a medicamentos são raras, apesar de se estimar que afetem 1 em cada 10 pessoas a nível global. No entanto, o risco de ocorrer uma reação adversa a um medicamento é cerca de 20% no caso de indivíduos hospitalizados. De facto, estima-se que os medicamentos estão associados a 1 em cada 5 mortes por choque anafilático⁵. Os sinais e sintomas típicos de uma alergia a um medicamento são febre e erupção cutânea.

No que toca às alergias alimentares, um estudo que envolveu 40 mil crianças revelou que cerca de 8% das crianças possui alergia a pelo menos um alimento e que cerca de 30% delas apresenta alergias a mais do que um alimento. Os alimentos que provocam alergias alimentares, de forma mais recorrente, são o amendoim, seguido do leite e do marisco⁵.

Quanto à asma alérgica, um estudo publicado em 2017 revela que, no período entre 1996 e 2016, a percentagem de indivíduos com asma alérgica passou de 5,0% para 7,3%. Por sua vez, a percentagem de indivíduos com asma não alérgica manteve-se relativamente estável, atingindo cerca de 3,6% da população mundial⁶.

Efetivamente, apercebemo-nos de que, em cada ano que passa, o número de indivíduos com alergias, sobretudo crianças, é cada vez maior. Portanto, o conhecimento nesta área, bem como o desenvolvimento de novas ferramentas terapêuticas, mas acima de tudo preventivas, tornam-se imprescindíveis.

Como tal, é fundamental minimizar a ocorrência de reações alérgicas nos indivíduos sensíveis a determinados alérgenos de modo a que estes possam ter uma qualidade de vida equivalente aos indivíduos não alérgicos.

2. Prevenção e tratamento de alergias

2.1. Conceitos básicos sobre a reação alérgica

Uma reação alérgica é definida, de acordo com a Organização Mundial da Alergia (WAO) e a Academia Europeia de Alergia e Imunologia Clínica (EAACI) como uma reação inflamatória local ou com sintomas generalizados derivados de um distúrbio imunológico induzido por uma resposta anormal do sistema imunitário a uma substância, geralmente, inofensiva e não prejudicial, designada de alérgeno. Isto é, o alérgeno é a entidade responsável pelo desenvolvimento de alergias⁷.

O sistema imunológico tem como finalidade proteger o organismo de agentes externos prejudiciais como vírus e bactérias, contudo, nos indivíduos alérgicos o sistema imune desenvolve respostas contra alérgenos. Os alérgenos incluem uma diversidade de substâncias, desde certos alimentos, como por exemplo, o amendoim, o pólen de plantas, o pêlo de animais, os ácaros, o tradicional pó doméstico ou determinados medicamentos⁸.

Assim, como traduz a Tabela 1, a concretização de uma reação alérgica origina certos sintomas típicos, bem localizados, que diferem do tipo de alérgeno e do órgão que é mais sensível, como a rinite ou conjuntivite alérgica, ou generalizados pelo organismo traduzindo-se num choque anafilático⁸.

Tabela 1: Sintomas típicos de uma reação alérgica em função do local do corpo humano exposto ao alérgeno. Tabela própria.

Local exposto ao alérgeno	Sintomas
 <p>Nariz</p>	<p>Rinite Alérgica Sinusite Alérgica</p>
 <p>Olhos</p>	<p>Conjuntivite Olhos Lacrimejantes</p>
 <p>Pele</p>	<p>Prurido Eczema Pele Irritada</p>
 <p>Pulmão</p>	<p>Asma Alérgica Dificuldades Respiratórias</p>
 <p>Sistema Digestivo</p>	<p>Vômitos Diarreia</p>
 <p>Organismo Generalizado</p>	<p>Choque Anafilático</p>

Em situações mais graves, a resposta do sistema imune a um determinado alérgeno pode ser muito intensa e atingir todo o organismo, desencadeando, então, um choque anafilático ou anafilaxia que, se não for rapidamente intervencionado por equipas médicas, poderá conduzir à morte do indivíduo. Alguns dos sinais do choque anafilático incluem os sintomas acima mencionados associados a edema da glote e garganta, dificuldades respiratórias e perda de consciência⁸.

Dentro das reações alérgicas, estas podem ser classificadas em vários tipos. As reações alérgicas do tipo I são as alergias mais comuns e prevalentes, sendo que são caracterizadas por uma reação de hipersensibilidade mediada pela imunoglobulina E (IgE)⁹.

2.2. Como se desenvolve uma reação alérgica

Para desenvolver uma alergia ou reação alérgica é necessário que o organismo entre em contacto com o alérgeno alvo. Assim, para que ocorra e se desenvolva uma reação alérgica têm de ocorrer sensivelmente duas fases:

Sensibilização: a sensibilização corresponde ao primeiro contacto entre o alérgeno e o organismo do indivíduo alérgico.

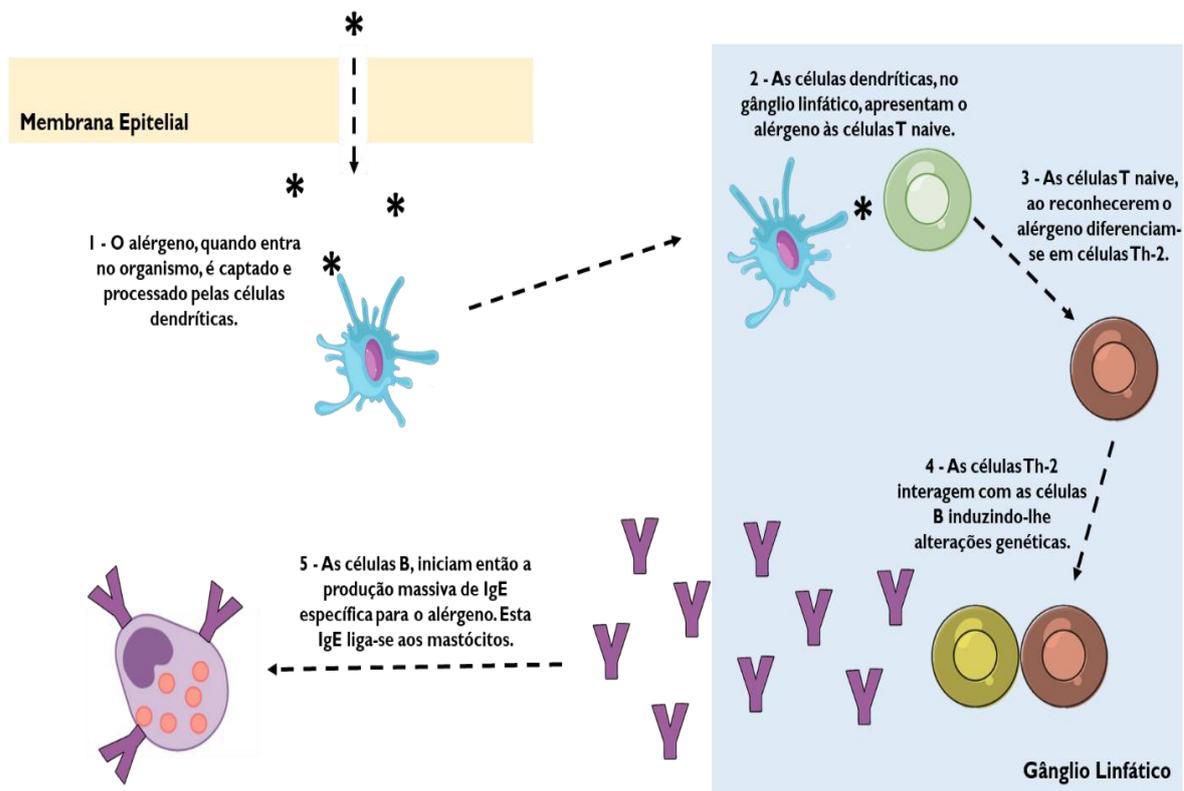


Figura 2: Como se desenvolve uma reação alérgica - Fase de Sensibilização. Imagem própria.

Com efeito, como podemos ver na Figura 2, quando o alérgeno entra no organismo de um indivíduo, as células do sistema imune, nomeadamente as células dendríticas, captam os alérgenos que irão ser apresentados nos gânglios linfáticos às células T naivas, desencadeando uma cascata de reações imunes¹⁰.

Dentro desta cascata de reações, destaca-se a diferenciação das células T naivas em células Th2 que, por sua vez, vão interagir com as células B, células produtoras de anticorpos. Esta interação induz, a nível genético, uma alteração nas células B, desencadeando, deste modo, a produção massiva de IgE específica para o alérgeno alvo. Esta imunoglobulina entra em circulação e vai ligar-se aos mastócitos, célula principal do sistema imunológico nas alergias¹⁰.

Reexposição ao alérgeno: a reexposição ao alérgeno pode ocorrer após a fase de sensibilização.

É possível que um determinado indivíduo possua no seu organismo, durante toda a sua vida, mastócitos associados a IgE específica para um determinado alérgeno sem que venha a desenvolver uma reação alérgica ou algum episódio de alergia. No entanto, caso ocorra um novo contacto com o alérgeno, este irá ser reconhecido pela IgE associada aos mastócitos desencadeando-se uma resposta imune rápida e violenta¹⁰.

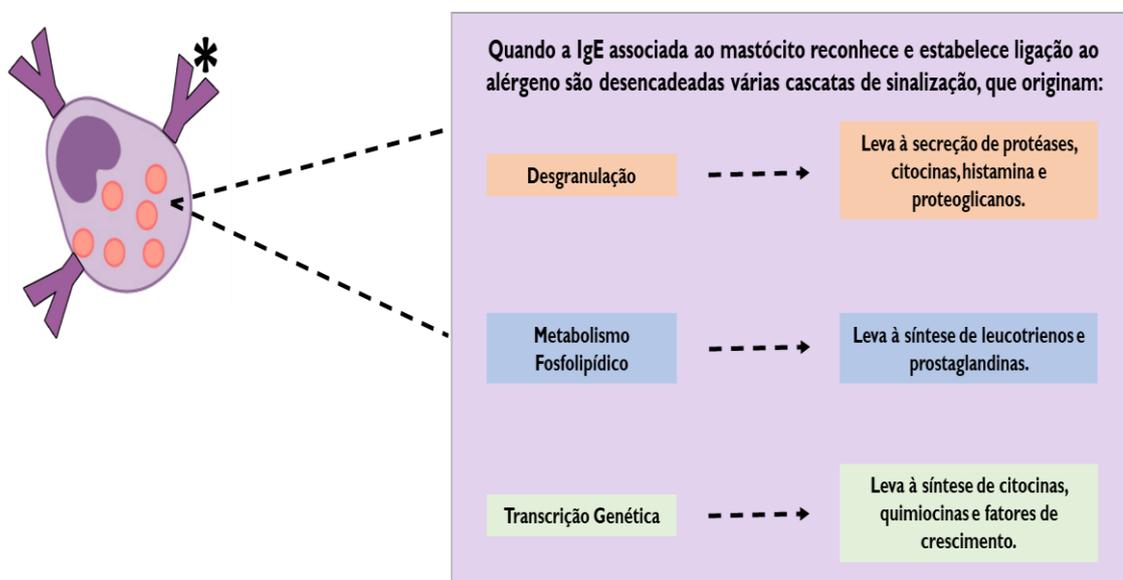


Figura 3: Como se desenvolve uma reação alérgica - Fase da Reexposição ao alérgeno. Imagem própria.

Isto acontece devido ao facto de os mastócitos serem células pertencentes ao sistema imunitário do tipo granular, ou seja, no interior dos mastócitos existem grânulos que contêm, entre outras substâncias, histamina, citocinas e mediadores pró-inflamatórios. Assim, o reconhecimento do alérgeno pelas IgE associadas aos mastócitos (Figura 3) estimula uma diversidade de vias metabólicas resultando na sua rápida desgranulação libertando para a circulação a histamina e os mediadores pró-inflamatórios o que irá desencadear a inflamação local e os sintomas característicos de uma alergia¹⁰.

2.3. Como se previne e trata uma reação alérgica

Sem dúvida que a melhor forma de prevenir o desenvolvimento de uma alergia ou reação alérgica é minimizar o contacto entre o alérgeno e o indivíduo alérgico. Por conseguinte, se não houver nenhum contacto entre o alérgeno e o organismo, não se desencadeia o processo alérgico.

Por exemplo, no caso de alergia ao amendoim, uma maneira preventiva de impedir uma reação alérgica é evitar a exposição e a ingestão deste alimento.

Todavia, quando não é possível prevenir e impedir o desencadear da reação alérgica, existem diversas estratégias que podem ser utilizadas. Nestas estratégias são incluídas tanto medidas não farmacológicas como também medidas farmacológicas (Tabela 2)⁸.

Tabela 2: Medidas não Farmacológicas e Farmacológicas para o tratamento de reações alérgicas.
Tabela própria.

Medidas não Farmacológicas	Medidas Farmacológicas
Sprays Nasais Salinos	Anti - histamínicos
Água do Mar (Hipertónica)	Corticosteróides
	Adrenalina
	Imunoterapia

Realmente, a utilização de *sprays* nasais salinos e água do mar, nomeadamente a hipertónica, medidas não farmacológicas, têm demonstrado alguma eficácia no tratamento de alguns sintomas alérgicos, como por exemplo a rinite e a sinusite. No que toca às medidas farmacológicas, verificamos que existem diversas estratégias terapêuticas.

Apesar de todos os avanços na prevenção e tratamento de alergias e reações alérgicas, é necessário que haja estratégias mais específicas, individualizadas, eficazes e seguras para permitir aos indivíduos sensíveis a determinados alérgenos terem uma qualidade de vida equivalente aos indivíduos não sensíveis.

Assim sendo, nos últimos anos, o foco tem-se centrado no desenvolvimento de estratégias terapêuticas, nomeadamente vacinas, com o objetivo de modular e reeducar o sistema imunitário dos indivíduos sensíveis.

De facto, no grupo das vacinas, tem havido um forte investimento, em particular, na área das vacinas genéticas para alergias, nomeadamente vacinas de DNA e vacinas de RNA mensageiro (mRNA). Estas novas abordagens encontram-se, atualmente, em ensaios clínicos e os resultados demonstrados têm sido bastante motivadores e promissores.

3. O que são vacinas genéticas?

Recentemente, surgiu uma abordagem completamente nova na área das vacinas, as vacinas de DNA. Este tipo de vacinas apresentam um grande potencial em várias áreas, nomeadamente na área oncológica, na área das doenças infecciosas, mas também, no tratamento das alergias.

Esta recente abordagem envolve a introdução direta nas células-alvo de um plasmídeo contendo uma sequência de DNA que codifica o antígeno ou o alérgeno desejado, estimulando assim uma resposta imunológica contra o antígeno produzido pelo próprio organismo¹¹.

Na vacina de DNA ocorre a administração de uma sequência de DNA que codifica para uma determinada proteína que corresponderá ao antígeno ou alérgeno alvo. Para que isto seja possível, é necessário que a sequência de DNA entre dentro da célula humana e, para além disso, tem de entrar no núcleo da respetiva célula, onde será transcrito em mRNA. O mRNA é, posteriormente, conduzido até ao citoplasma da célula onde é traduzido na proteína correspondente ao antígeno ou alérgeno alvo, sendo, posteriormente, exposta à superfície da célula desencadeando e estimulando uma resposta pelo sistema imunitário¹¹.

Tabela 3: Vantagens das Vacinas de DNA, no que diz respeito à Segurança, Eficácia e Produção.
Tabela própria.

Vantagens das Vacinas de DNA	
Segurança	Na administração não é necessário administrar o antígeno ou o alérgeno alvo, dado que este é produzido <i>in situ</i> o que aumenta a Segurança desta tecnologia.
Eficácia	Resultados de ensaios clínicos demonstram que as vacinas de DNA geram uma resposta imunológica mais potente .
Produção	O ciclo de produção de vacinas de DNA é relativamente fácil e rápido o que torna o processo de fabricação , em larga escala, mais simples .

Na verdade, as vacinas de DNA são uma tecnologia farmacêutica muito promissora, no entanto, o potencial e as vantagens (Tabela 3) desta tecnologia devem ser avaliados caso a caso, dado que a sua aplicabilidade depende de alguns fatores, sobretudo da natureza das células-alvo da vacina.

No entanto, este tipo de vacinas já foi submetido a vários ensaios em murgos com o objetivo de demonstrar a sua eficácia no tratamento de uma infinidade de doenças e tumores, sem relevar nenhum problema maior pelo que a segurança relativamente a estas vacinas foi ultrapassado¹².

Deste modo, estas vacinas têm-se demonstrado seguras pelo que ao longo dos anos tem havido um forte investimento em estratégias de otimização, sobretudo ao nível da eficácia das vacinas genéticas¹².

Para além das vacinas de DNA, outro tipo de vacinas genéticas que tem sido muito desenvolvido nos últimos anos são as vacinas de mRNA. As vacinas de mRNA apresentam, para além da área das doenças infecciosas, um grande potencial terapêutico tanto na área oncológica como na área das alergias¹³.

O fundamento desta tecnologia consiste numa sequência de RNA mensageiro, associado a uma cauda de poliadenosinas na extremidade 3' para melhorar a estabilidade do mRNA. No citoplasma das células, o RNA mensageiro é traduzido numa proteína que corresponderá ao antigénio ou ao alérgeno no caso de se tratar de uma vacina de mRNA para a prevenção ou tratamento de alergias. Este antigénio ou alérgeno é, posteriormente, exposto á superfície da célula de modo a ser reconhecido pelas células do sistema imunológico¹³.

Tabela 4: Vantagens das Vacinas de mRNA, no que diz respeito à Segurança, Eficácia e Produção¹⁴.
Tabela própria.

Vantagens das Vacinas de mRNA	
Segurança	As sequências de RNA mensageiro administradas têm demonstrado ser bem toleradas e seguras na maioria dos ensaios clínicos. As sequências de mRNA administradas não são integradas no genoma das células humanas, pelo que as sequências são eliminadas após a sua tradução na proteína desejada, aumentando a Segurança .
Eficácia	Resultados de ensaios clínicos com vacinas de mRNA demonstraram que este tipo de vacinas gera uma resposta imune ideal , apresentando elevada Eficácia .
Produção	As vacinas de mRNA apresentam, também, um ciclo de produção mais rápido , o que se traduz numa vantagem dado que a capacidade de resposta a um surto emergente é maior.

Estas vacinas de mRNA apresentam, entre outras (Tabela 4), uma grande vantagem relativamente às vacinas de DNA, nomeadamente o facto de não terem a necessidade de entrarem no interior do núcleo da célula para que ocorra a produção do antigénio ou alérgeno.

Assim sendo, a aplicação tanto de vacinas de DNA como de mRNA, no tratamento de alergias, encontra-se em profundo desenvolvimento¹³.

4. Vacinas de DNA e mRNA aplicadas às alergias

Centrando o foco nas vacinas de DNA e mRNA aplicadas às alergias, uma área terapêutica vasta e complexa, em que o objetivo principal destas vacinas é o tratamento e prevenção de reações alérgicas. Sim, o objetivo é reeducar o organismo humano, mais especificamente o sistema imunitário, de modo a evitar que ocorram episódios e fenómenos

alérgicos, bem como reações alérgicas graves, a determinados alérgenos presentes na natureza.

Estas novas tecnologias, destinadas à terapêutica das alergias, apresentam grandes vantagens uma vez que não há necessidade de qualquer administração do alérgeno ou fragmentos deste no organismo humano, não potenciando o desenvolvimento de qualquer reação alérgica, o que se traduz numa maior segurança para o doente.

4.1. Primeiros estudos com vacinas genéticas

No início da investigação foram utilizados plasmídeos simples, que veiculavam sequências genéticas úteis na prevenção de reações alérgicas¹⁴.

A título exemplificativo, num estudo em que se procedeu à imunização intramuscular de murganhos com um plasmídeo de DNA simples que codificava o alérgeno do pó doméstico, verificou-se que havia uma diminuição na produção de IgE específica para o alérgeno. Além disto, verificou-se que a vacinação com esse plasmídeo levava a uma menor libertação de histamina e mediadores pró-inflamatórios aquando da posterior exposição ao alérgeno¹⁴.

Após estes estudos iniciais foram produzidos vários plasmídeos de DNA que codificavam para uma grande diversidade de alérgenos. Estes foram submetidos a estudos pré-clínicos, tendo sido administrados a animais roedores, nomeadamente murganhos. Nestes estudos foi possível descrever uma correlação entre a libertação de IFN- γ pelas células Th1 e a produção de IgG_{2a}, induzida pelas vacinas de DNA, com uma menor recorrência das reações alérgicas do tipo I¹⁵.

Na realidade, desde o início do desenvolvimento das vacinas genéticas para as alergias que se percebeu o seu potencial bem como o papel e a importância do IFN- γ , citocinas, da histamina e, ainda, das imunoglobulinas na prevenção ou na indução de reações alérgica do tipo I¹⁵.

De facto, os primeiros estudos demonstraram que estes tipos de vacinas genéticas, nomeadamente as vacinas de DNA e as vacinas de mRNA, constituem uma estratégia promissora no tratamento e combate de reações alérgicas, o que impulsionou e interessou a comunidade científica nesta área.

Portanto, foram realizados mais estudos nesta área, em modelos animais, nos quais foi possível demonstrar que as vacinas genéticas apresentam elevada eficácia na obtenção de respostas imunológicas fortes mediadas sobretudo pelas células Th1, reduzindo, na mesma instância, a produção de IgE e a atividade das células Th2¹⁶.

Para além disto, conclui-se ainda que estas vacinas estimulam a produção de Interferão-gama (IFN- γ), citocina que induz a expressão de recetor do tipo Toll 9 (TLR-9), pelos linfócitos T CD4+ e T CD8+¹⁶.

Esta capacidade das vacinas genéticas poderá ser utilizada para modular o sistema imunitário, levando a uma diminuição da estimulação das células Th2, bem como, da secreção de citocinas e IgE aquando da exposição, futura, de um individuo alérgico ao alérgeno¹⁶.

Assim sendo, e tendo por base estes dados iniciais, as vacinas genéticas, tais como vacinas de DNA e vacinas de mRNA, apresentam-se como novas estratégias promissoras no combate a reações alérgicas do tipo I. No entanto, estas novas tecnologias requerem mais desenvolvimentos, de modo a potenciar ao máximo a eficácia e segurança destas ferramentas, pelo que tem havido um forte investimento por parte da comunidade científica e indústrias farmacêuticas.

4.2. A resposta imunológica induzida pelas vacinas genéticas

Com base nos estudos em roedores, após vacinação com vacinas genéticas que codificam alérgenos, foi possível determinar que a classe predominante de anticorpos em circulação é a IgG, mais especificamente a IgG_{2a}, imunoglobulina capaz de ativar o sistema do complemento.

O sistema do complemento corresponde a uma cascata de reações enzimáticas que ajuda o sistema imunitário na defesa do organismo humano. O complemento faz a ligação entre a imunidade inata (primária) e a imunidade adquirida (secundária) enquanto as proteínas do complemento possuem diversas funções biológicas, por exemplo, induzem a desgranulação dos mastócitos¹⁷.

Para além da estimulação do complemento, sabe-se que os níveis de IgG_{2a} específica para um determinado alérgeno aumentam quando existe um contacto com o alérgeno em causa, e que os níveis permanecem elevados por períodos relativamente longos¹⁸.

Este aumento dos níveis de IgG, induzido pela imunização por vacinas genéticas, para além do mencionado anteriormente, possui um papel protetor contra reações alérgicas dado que esta classe de imunoglobulinas “bloqueia” a interação entre a IgE associada ao mastócito e o alérgeno específico. Assim, na exposição ao alérgeno, este não se liga à IgE e, conseqüentemente, é bloqueada a desgranulação dos mastócitos e a libertação de citocinas e de mediadores pró-inflamatórios¹⁸.

Após estes desenvolvimentos, percebeu-se que a eletroporação *in vivo* era uma estratégia adicional para aumentar a produção de IgG pelo sistema imune e, conseqüentemente, bloquear a interação IgE - alérgeno. Isto verifica-se uma vez que a eletroporação, Figura 4, corresponde a um método de transfecção física que recorre a impulsos elétricos para criar poros nas membranas das células de modo a potenciar a entrada dos plasmídeos para o interior das células¹⁹.

Contudo, ao passar dos estudos em roedores para estudos em humanos, foi possível determinar que a produção de anticorpos, nomeadamente IgG, após administração de vacinas genéticas, era relativamente fraca. Esta fraca imunidade humoral é, muito provavelmente, consequência de uma deficiente captação das sequências genéticas pelas células¹⁹.

Neste sentido, há necessidade de aplicar métodos que permitam aumentar a entrega *in vivo* das sequências genéticas às células, nomeadamente eletroporação ou bioinjetores, de modo a potenciar, nos humanos, a resposta imune humoral mediada por imunoglobulinas, sobretudo a IgG_{2a}.

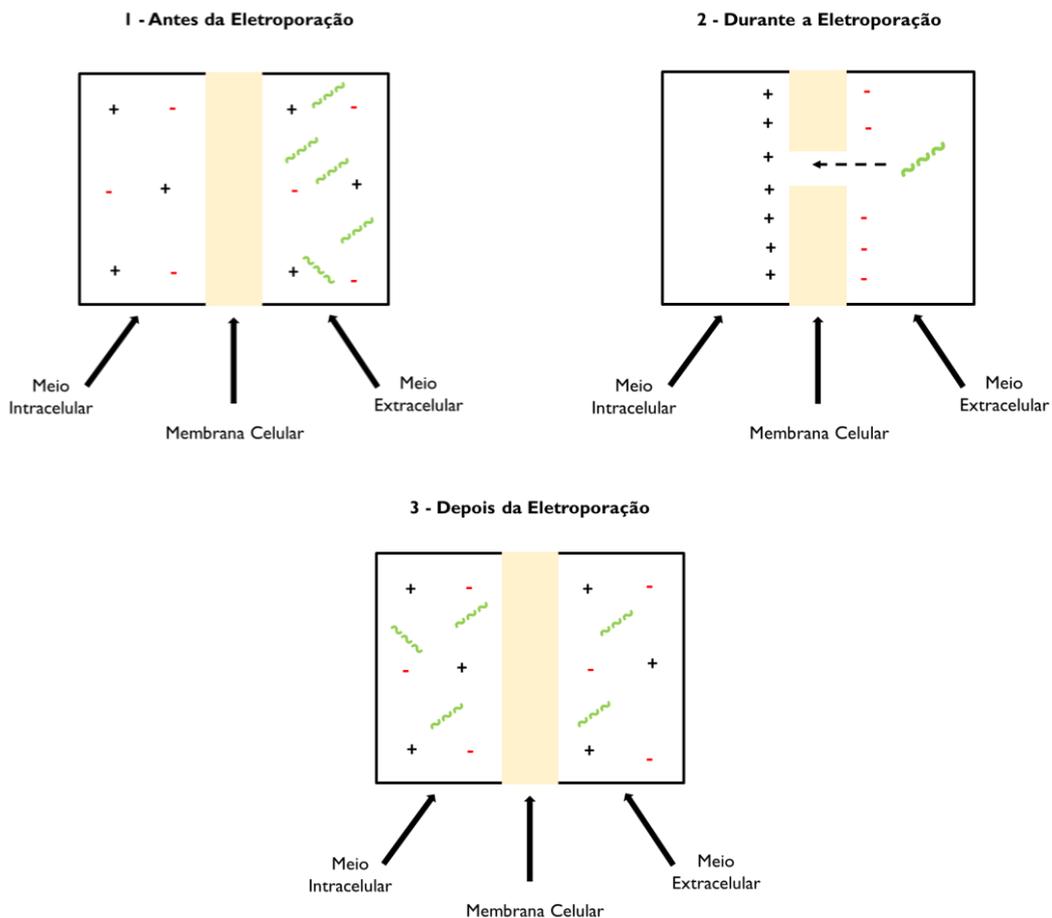


Figura 4: Processo de eletroporação como estratégia para potenciar a entrada das sequências de DNA e mRNA para o interior da célula. 1 - Antes do impulso elétrico, as cargas elétricas distribuem-se de forma equilibrada tanto no meio intracelular como no meio extracelular. 2 - Durante a eletroporação, os impulsos elétricos induzem uma reorganização das cargas elétricas, o que leva à fragilização da membrana celular levando à abertura de poros. 3 - Após o processo de eletroporação, verificamos que as sequências genéticas conseguem atravessar a membrana celular através do poro gerado pelo impulso elétrico. Imagem própria.

Com o avançar dos estudos nesta área, foi descoberto outro tipo de célula do sistema imunitário com um papel importante na prevenção de reações alérgicas, nomeadamente, as células T reguladoras (Treg), células que produzem uma citocina importante, designadamente a Interleucina-10 (IL-10)²⁰.

Com isto, a imunoterapia específica para as alergias centralizou-se neste tipo de células em detrimento da modulação da resposta imune mediada pelas células Th1, dado que foram levantadas preocupações sobre a possibilidade de as células Th1 poderem induzir um processo inflamatório crónico. Porém, os estudos até agora realizados, com vacinas genéticas, não revelaram qualquer processo inflamatório patológico após indução de respostas imunes mediadas pelas células Th1, dado que a secreção de IL-10 parece limitar a ação destas células²⁰.

Visto isto, as vacinas genéticas, nomeadamente as de DNA, para além de direcionarem a resposta imune para o tipo Th1, possuem também, a capacidade de estimular as células T reguladoras, que têm uma ação protetora mediante a secreção de IL-10²⁰.

De modo a comprovar esta teoria foi realizado um estudo envolvendo roedores criados em ambiente agrícola, logo não sensíveis a alérgenos, e verificou-se que no perfil de citocinas destes animais há um destaque para os níveis elevados de Interleucina-10. Assim sendo, a IL-10 terá uma ação protetora importante, sobretudo a nível do processo inflamatório associado a reações alérgicas²⁰.

5. Estratégias de otimização da Segurança das vacinas genéticas para alergias

Tal como aconteceu nos primórdios do desenvolvimento das vacinas genéticas em geral, algumas questões foram levantadas quando se iniciou e apostou nas vacinas genéticas para alergias. A principal preocupação da comunidade científica foi a expressão descontrolada dos alérgenos, potencializando a sua ligação à IgE específica, associada aos mastócitos, desencadeando a sua intensa desgranulação, induzindo a ocorrência de efeitos adversos, nomeadamente os característicos de uma reação alérgica, podendo levar mesmo à morte¹⁵.

Para evitar este problema, houve a necessidade de gerar vacinas genéticas para alergias, tanto vacinas de DNA como vacinas de mRNA, com segurança otimizada. Para tal, o conhecimento pormenorizado e detalhado da estrutura dos alérgenos, incluindo os seus epítomos imunodominantes, partes do alérgeno que são reconhecidas e que se ligam à IgE ou aos recetores celulares, é crucial¹⁵.

Caso as vacinas genéticas se destinem à imunização terapêutica e preventiva de indivíduos jovens e saudáveis contra a sensibilidade a alérgenos, a fim de melhorar a sua qualidade de vida, as medidas de segurança são ainda mais apertadas e rigorosas.

5.1. Otimização das vacinas de DNA para alergias

Para tornar as vacinas de DNA para alergias mais seguras, podemos atuar de dois modos: ou pela codificação de moléculas hipoalérgicas em detrimento do alérgeno puro, ou evitando a produção descontrolada do alérgeno *in situ*.

5.1.1. Produção de Moléculas Hipoalérgicas

Todo o conhecimento relativo ao alérgeno permite criar vacinas em que os plasmídeos contenham sequências de DNA que codifiquem as, designadas, moléculas hipoalérgicas

(Figura 5). Para que estas sequências codifiquem as moléculas hipoalergénicas é necessário introduzir mutações no gene que codifica o alérgeno original²².

As moléculas hipoalergénicas geradas *in vivo*, relativamente ao alérgeno original, não possuem tanta capacidade de ligação à IgE específica, logo a ocorrência de efeitos colaterais típicos da ligação alérgeno - IgE é minimizada. Por conseguinte, a criação de vacinas de DNA que codifiquem para estas moléculas hipoalergénicas em vez de codificarem o alérgeno na sua totalidade e no seu estado puro, tornam-se mais seguras para os indivíduos sensíveis²².

Contudo, estas moléculas possuem os epítomos imunodominantes do alérgeno o que permite criar uma ligeira estimulação das células Th1. Esta estimulação não origina uma reação alérgica mas permite reeducar o sistema imunológico de modo a que numa exposição futura ao alérgeno puro não o reconheça como patogénico não desencadeando, assim, uma reação alérgica²¹.

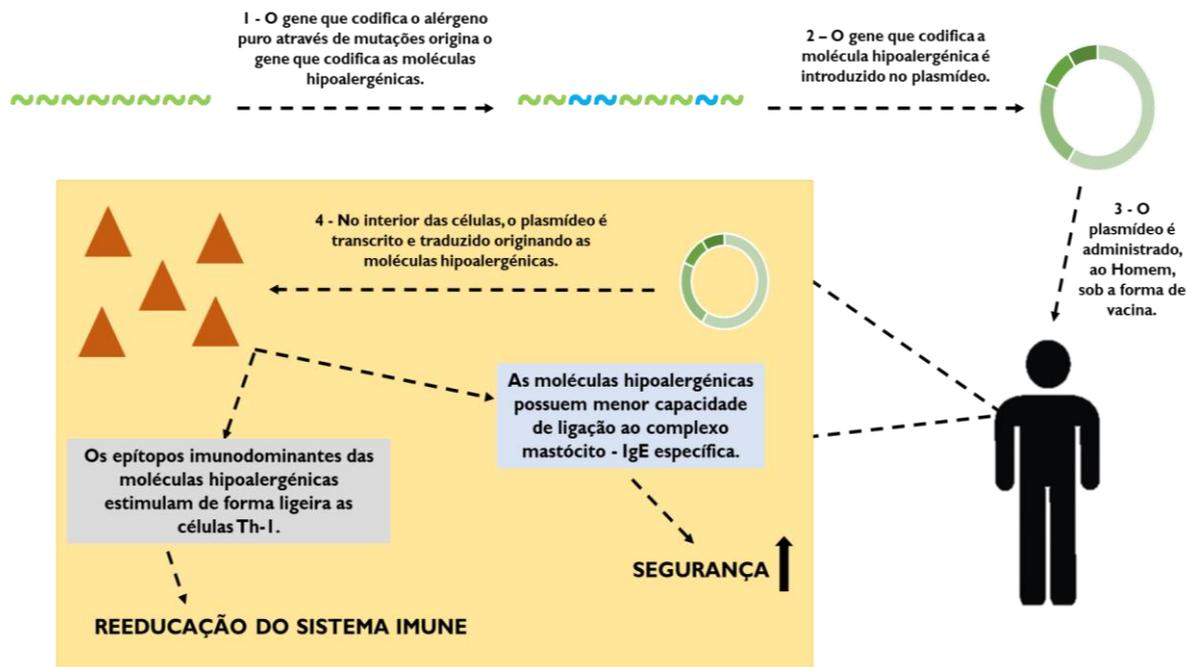


Figura 5: Moléculas Hipoalergénicas - Desde a produção do gene, à sua introdução no plasmídeo, bem como as suas propriedades e vantagens *in vivo*. Imagem própria.

A título informativo do que pode ser encontrado na literatura sobre este assunto, encontramos um estudo em murganhos em que foram testadas vacinas de DNA que codificam moléculas hipoalergénicas do pólen de bétula e verificou-se que protegiam os murganhos da sensibilidade e da alergia a este pólen, além de reverterem a resposta imune mediada pelas células Th2²².

5.1.2. Controle da produção descontrolada do alérgeno *in vivo*

Para modular e evitar uma produção descontrolada do alérgeno puro *in vivo*, ou seja, para tornar as vacinas de DNA mais seguras, são criadas e adicionadas certas sequências genéticas ao plasmídeo que têm por finalidade direcionar o alérgeno alvo para compartimentos celulares, impedindo deste modo a produção descontrolada do alérgeno bem como a sua liberação e circulação no meio extracelular (Figura 6)²³.

Uma estratégia em estudo é adicionar ao plasmídeo sequências que levem à ubiquitinação do alérgeno e, deste modo o alérgeno codificado é, diretamente, direcionado para o proteossoma celular, para que seja degradado. No proteossoma, o alérgeno alvo é então degradado em vários peptídeos e estes são, posteriormente, associados a proteínas do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC), nomeadamente proteínas MHC-II, formando complexos. Os complexos são expostos à superfície das células de modo a estabelecerem ligação com outras células do sistema imune²³.

Outra estratégia em desenvolvimento é a adição de sequências genéticas, no plasmídeo, que codifiquem a Proteína da Membrana do Lisossoma (LAMP). Assim, o plasmídeo ao ser transcrito e traduzido origina uma proteína de fusão LAMP-alérgeno, sendo que esta proteína de fusão vai conduzir o alérgeno ao compartimento lisossomal, para que este seja degradado. Após a degradação, os peptídeos resultantes são, também, associados a proteínas MHC-II, e os complexos expostos à superfície das células.²⁴

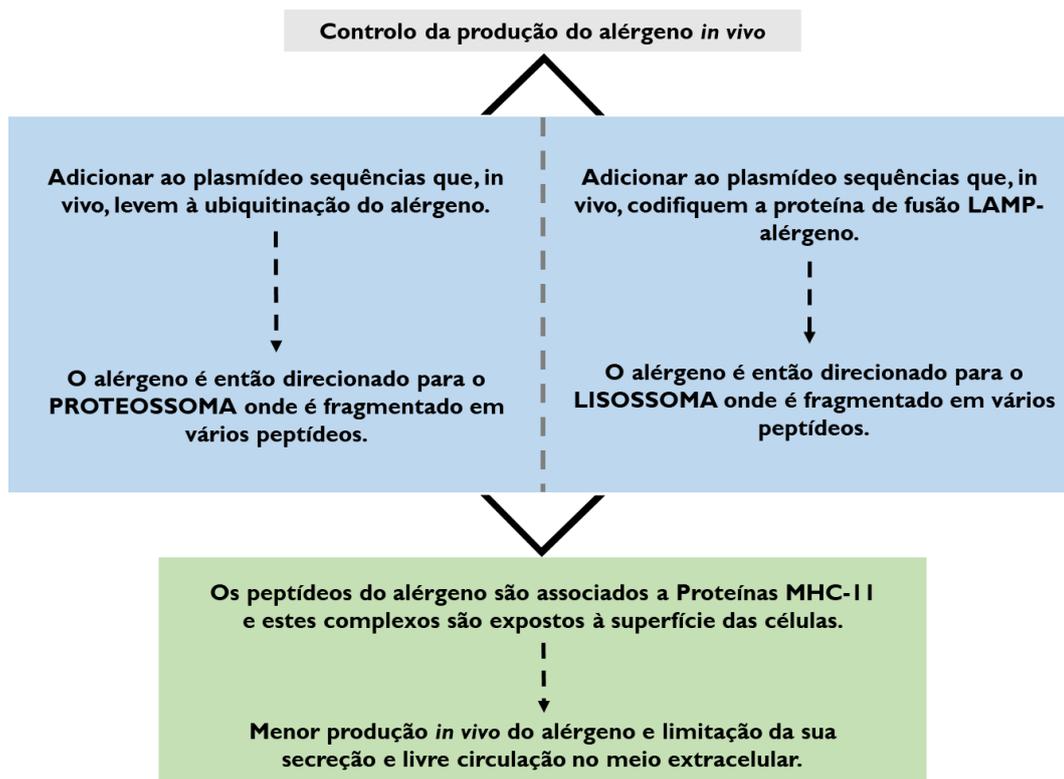


Figura 6: Estratégias em desenvolvimento para controlar a produção do alérgeno *in vivo* e aumentar a segurança das vacinas de DNA. Imagem própria.

Ambas as estratégias apresentadas têm em comum o facto de não originarem a produção exagerada e secreção do alérgeno para o meio extracelular, o que impede a sua ligação à Ig E específica, impedindo o desencadear da reação alérgica, para além de induzirem uma resposta imune tendencialmente mediado por células Th1.

5.2. Otimização das Vacinas de mRNA para alergias

As vacinas de mRNA apresentam, por norma, um perfil de segurança superior às vacinas de DNA, uma vez que as sequências de mRNA não entram no núcleo, não integram, por conseguinte, com o genoma humano e são prontamente eliminadas do organismo, após a tradução no citoplasma.

Este tipo de vacinas utiliza, geralmente, plasmídeos que consistem basicamente na cadeia de RNA mensageiro de interesse associado a uma cauda de poliadenosinas na extremidade 3' e, ainda, a uma cauda de metilguaninas na extremidade 5'. Contudo, com a finalidade de aumentar a estabilidade do RNA mensageiro e potenciar a sua tradução no alérgeno de interesse, têm sido adicionadas regiões não codificáveis (UTR) na extremidade 3' e ou 5'²⁵.

Através de diversos estudos já realizados, sabe-se que a imunização com vacinas de mRNA induz uma resposta imune mediada pelas células Th1, tão potente como as vacinas de DNA, somando ainda o facto de ser capaz de reduzir a formação de IgE específica para alérgeno.²⁶

6. Prevenir reações alérgicas será uma realidade no futuro

As vacinas genéticas, tanto as de DNA como as de mRNA, avaliadas em modelos animais para alergias, demonstraram a sua eficácia na modulação do sistema imunitário. Tanto por direcionarem a resposta imune para as células Th1 em detrimento das Th2, como pela capacidade de suprimirem os níveis de IgE específica, e, ainda, pela redução do processo inflamatório associado à reação alérgica devido à estimulação da IFN- γ , IgG_{2a} e IL-10²⁷.

No entanto, modular uma resposta imunológica madura, ou seja, já estabelecida, é bastante mais complexo do que direcionar e educar um sistema imune que se encontra em desenvolvimento. Como tal, para uma eficaz prevenção das alergias, o momento em que se inicia o processo é crucial²⁷.

Assim sendo, numa experiência em que se procedeu à exposição de um indivíduo adulto e alérgico, periodicamente, a doses elevadas do alérgeno, ocorreu, simplesmente, uma melhoria moderada dos sintomas alérgicos. Pelo contrário, quando a mesma experiência envolveu crianças, expostas a doses baixas de alérgeno, verificou-se alguma capacidade de evitar reações alérgicas aquando da exposição ao alérgeno²⁸.

Contudo, a testagem de vacinas terapêuticas na clínica exigiria uma seleção criteriosa das crianças submetidas aos estudos, dado que estas deveriam ser crianças alérgicas, ou seja, crianças que desenvolvessem reações alérgicas do tipo I²⁷.

Por outro lado, um estudo onde foram testadas vacinas de mRNA para alergias, em adultos, que induziam respostas imunes pouco intensas, constatou-se que parecem ser suficientes para manter a proteção contra as alergias ao longo da vida²⁸.

Deste modo, pensa-se que as vacinas genéticas terapêuticas, aplicadas a crianças possivelmente alérgicas, deverão atuar induzindo reações imunes pró-inflamatórias ligeiras e sequenciais, de modo a criarem vias imunológicas no seu organismo, originando tolerância ao alérgeno. Deste modo, o sistema imunitário da criança é educado a deixar de reconhecer os alérgenos como entidades estranhas e perigosas ao organismo, impedindo que, em futuras exposições, ocorram reações alérgicas²⁷.

Não obstante, alguns investigadores consideram que a indução de pequenas respostas pró-inflamatórias, provocadas pelas vacinas genéticas, poderá não ser suficiente para impedir a sensibilização alérgica. Pelo que, muitos sugerem a importância de associar às vacinas genéticas sequências imunomoduladoras como o CpG, sequência que redireciona o sistema imune para uma resposta do tipo Th1²⁹.

7. Principal barreira ao desenvolvimento de vacinas genéticas para alergias

Desde o início do desenvolvimento das vacinas genéticas muitas foram as apreensões, da comunidade científica relativamente à segurança deste tipo de vacinas, o que levou ao levantamento de algumas questões³¹.

Dentro do leque de questões levantadas, pretendo destacar 2 nomeadamente, a possibilidade de ocorrer integração do material genético no genoma das células humanas podendo levar ao desenvolvimento de cancro. Esta questão prende-se quando se tratam de vacinas de DNA, onde é crucial que as sequências genéticas atinjam o núcleo das células. Outra dúvida gerada na comunidade científica reside no facto de a permanência das sequências genéticas no organismo, por longos períodos de tempo, induzir a produção de anticorpos anti-DNA e ou anti-mRNA originando possíveis reações autoimunes graves³¹.

Deste modo, face às várias questões levantadas pela comunidade científica, a Agência Europeia do Medicamento (EMA) e a *Food and Drug Administration* (FDA), agência norte americana, viram-se obrigadas a intervir e classificaram as vacinas genéticas como terapia genética³⁰.

Para além disto, a EMA, entidade europeia responsável pelo medicamento, elaborou *Guidelines* (Figura 7) com objetivos específicos. Estas *Guidelines* estabelecem normas apertadas relativamente ao desenvolvimento, produção e controlo de vacinas genéticas, quer das vacinas de DNA quer das vacinas de mRNA, destinadas à aplicação em seres humanos³⁰.

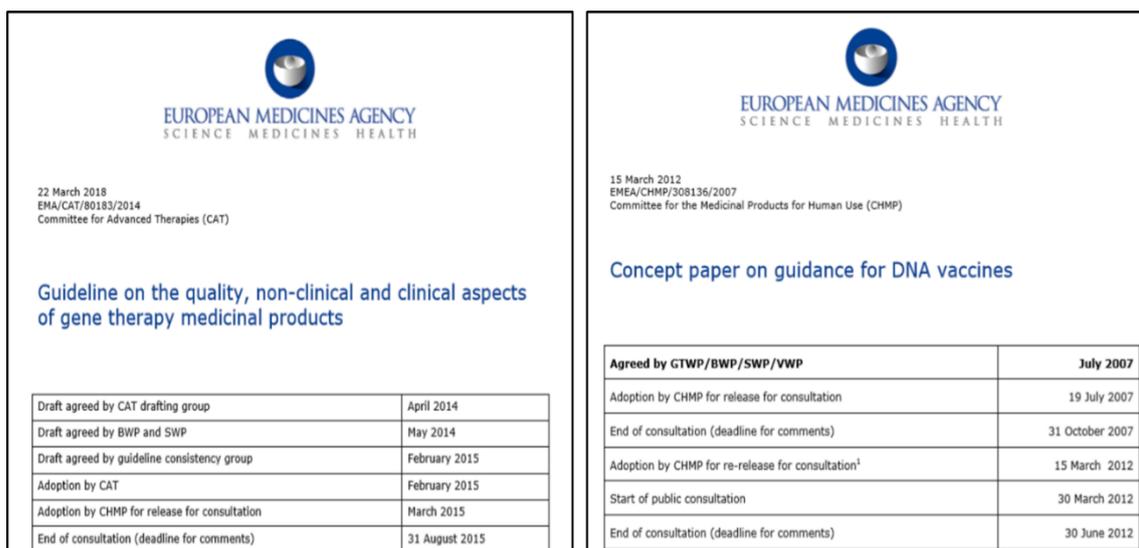


Figura 7: Exemplos de Guidelines europeias, implementadas pela EMA, referentes à regulamentação apertada das Vacinas genéticas^{32,33}.

8. Vacinas genéticas para alergias, atualmente, em ensaios clínicos

Apesar da forte exigência regulamentar e da necessidade de grande investimento, o desenvolvimento de vacinas genéticas, tanto DNA como mRNA, progrediu de modo a que alguns projetos de vacinas tenham alcançado a fase dos ensaios clínicos.

Por conseguinte, atualmente, algumas vacinas genéticas para algumas alergias do tipo I estão a ser testadas através de ensaios clínicos. Contudo, estes ensaios encontram-se nas fases iniciais de desenvolvimento, sobretudo na fase I. A este nível de desenvolvimento, pretende-se avaliar, principalmente, a segurança deste tipo de vacinas.

Algumas das vacinas em estudo estão associadas ao processo de otimização pela LAMP, ou seja, o plasmídeo veicula informação genética que codifica uma proteína de fusão LAMP-alérgeno.

Cry J2 - DNA - LAMP

A vacina, cujo nome de código é Cry J2 - DNA - LAMP, corresponde a um plasmídeo de DNA que contém informação genética que codifica para a proteína de fusão LAMP-alérgeno Cry J2, alérgeno responsável pela alergia ao Cedro Vermelho japonês³³.

Assim, no estudo de fase IA (Tabela 5) os resultados foram totalmente animadores, pois ao fim de 130 dias, 10 dos 12 participantes sensíveis, quando expostos ao alérgeno, não desenvolveram qualquer tipo de alergia. Destaca-se que as preparações injetáveis foram bem toleradas por todos os indivíduos envolvidos, revelando assim que a vacina é segura³³.

Posteriormente, na fase IB, (Tabela 5) pretendeu-se perceber o tipo de respostas imunológicas dos indivíduos que entraram na fase IA, para tal procedeu-se a um reforço adicional da vacina. Os resultados ainda não se encontram disponíveis³⁴.

Foi também realizado um outro estudo de fase IC, (Tabela 5) em que se pretende avaliar, uma vez mais, a segurança, da mesma vacina, neste caso em função a dose, 1.08 mg e 2.16 mg, sendo administrada por via intradérmica, recorrendo a um bioinjetor. Os resultados também não se encontram disponíveis³⁵.

ASP4070

A vacina ASP4070 é também uma vacina de DNA destinada às alergias ao pólen do Cedro Vermelho japonês. Assim sendo, esta vacina corresponde, também, a um plasmídeo que codifica para a proteína de fusão LAMP-alérgeno Cry J2³⁶.

Embora esta vacina já tenha entrado na fase II de ensaios clínicos, os resultados tanto do estudo de fase I como do estudo de fase II não se encontram disponíveis³⁶.

ASP0892

A vacina de DNA, ASP0892, está associada à tecnologia LAMP, sendo que, neste caso, esta vacina tem por objetivo a prevenção de reações alérgicas induzidas pelo amendoim. Deste modo, esta vacina pretende eliminar a sensibilidade aos principais alérgenos do amendoim, nomeadamente ARA h1, h2 e h3³⁷.

Como tal, o plasmídeo veicula informação genética que codifica para a proteína de fusão LAMP-alérgeno. A LAMP direciona a proteína de fusão para o compartimento do lisossoma e o alérgeno ARA h1, h2 ou h3 é processado e associado às proteínas do complexo principal e histocompatibilidade MHC-II. O complexo alérgeno-MHC-II estimula a resposta imune mediada pelas células Th1 e a produção de IgG_{2a}, em detrimento da resposta pelas células Th2 e produção IgE observada no decurso de uma exposição natural ao alérgeno³⁷.

Esta vacina encontra-se em estudo, sendo que está na de fase I de desenvolvimento (Tabela 5). Até agora, os resultados obtidos são promissores já que é uma vacina segura, pois os efeitos imunorreguladores foram alcançados com ausência de qualquer reação adversa à vacina³⁷.

Outras vacinas genéticas em ensaios clínicos são vacinas que usam como estratégia sequências de DNA associadas a sequências imunomoduladoras CpG. Estas sequências CpG ligam-se a receptores do tipo Toll 9 (TLR-9) localizados predominantemente no interior das células dendríticas. A ligação aos TLR-9 induz, nos humanos, respostas mediadas pelas células Th1.

TOLAMBA™

TOLAMBA™ é uma vacina que corresponde a uma sequência CpG conjugada com sequências que codificam para o alérgeno Amb a I e foi desenhada para atingir e impedir a rinite alérgica sazonal. Esta associação garante que as duas sequências sejam apresentadas, em simultâneo, às mesmas células do sistema imune, de modo a produzir um efeito inibitório das células Th2, altamente específico, bloqueando o processo inflamatório e, conseqüentemente, o sintoma de rinite associado à alergia³⁸.

Esta vacina encontra-se na fase II de desenvolvimento (Tabela 5) e os resultados demonstraram que o tratamento foi bem tolerado, não havendo registo de qualquer ocorrência de efeitos colaterais graves, o que pode ser explicado pela baixa sensibilidade da IgE ao alérgeno Amb a I. Após o tratamento, os participantes foram expostos ao alérgeno, tendo demonstrado que os níveis de IgE não aumentaram em comparação com os indivíduos sensíveis e não tratados³⁹.

Porém, este estudo teve de ser suspenso pela presença de sintomas alérgicos ligeiros no grupo placebo³⁹.

QβG10

As vacinas QβG10 correspondem a sequências CpG que foram encapsuladas em partículas tipo vírus (VLP's) com o objetivo de aumentar a estabilidade e a proteção da sequência imunomoduladora.⁴⁰

Esta tecnologia foi combinada com um alérgeno, nomeadamente o ácaro do pó doméstico, e foi testada num ensaio clínico de fase I/IIA (Tabela 5) em indivíduos sensíveis a este alérgeno. Após o tratamento, os participantes entraram em contacto com o ácaro do pó doméstico e revelaram uma completa tolerância ao alérgeno, sendo que o tratamento reduziu eficazmente sintomas como a rinite e a asma alérgica durante 38 semanas após o fim do tratamento. Esta formulação induziu o aumento dos níveis de IgG_{2a}, “bloqueando” então a ligação IgE-alérgeno, impedindo a reação alérgica bem como os seus sintomas⁴⁰.

Posteriormente, foi realizado um estudo adicional, em que num grupo de indivíduos foi administrado apenas o alérgeno, ou seja, o ácaro do pó doméstico, e no outro grupo foi administrado apenas a Q β G10, sem qualquer alérgeno associado. Com este estudo, surpreendentemente, percebeu-se que os efeitos clínicos observados nos dois grupos de indivíduos foram semelhantes⁴¹.

Estes resultados levaram à realização de um ensaio de fase IIB em que os participantes receberam doses altas e baixas de Q β G10 sem qualquer alérgeno. Nos indivíduos que receberam doses elevadas de Q β G10, verificou-se uma tolerância 10 vezes superior aos alérgenos relativamente ao grupo que recebeu doses baixas de Q β G10. Todavia, o mecanismo pelo qual esta tecnologia não específica é capaz de reduzir as reações alérgicas bem como os seus sintomas, não está totalmente esclarecido⁴².

No entanto, uma possível explicação poderá residir no facto de ao encapsular as sequências de CpG em VLP's de tamanho 30 nm, estas atinjam rapidamente os gânglios linfáticos onde são fagocitadas pelas células dendríticas expondo assim as sequências. Estas sequências são acopladas aos TLR-9, o que induz a produção de citocinas indutoras das células Th1 e supressoras das células Th2, bloqueando então o desenvolvimento da reação alérgica e dos sintomas associados⁴².

Tabela 5: Descrição pormenorizada dos ensaios clínicos, onde o principal objetivo é avaliar a segurança das vacinas genéticas para alergias. Tabela própria.

Vacinas genéticas para alergias atualmente em ensaios clínicos						
	Vacina	Alérgeno	Regime	Via de administração	Dose	Fase de Desenvolvimento
Vacinas associadas à tecnologia LAMP	Cry J2 - DNA - LAMP	Cry J2 (Cedro Vermelho Japonês)	4 Administrações intervaladas por períodos de 14 dias	Intramuscular	2 a 4 mg de plasmídeo	IA
	Cry J2 - DNA - LAMP	Cry J2 (Cedro Vermelho Japonês)	Reforço adicional da Vacina	Intramuscular	2 mg de plasmídeo	IB
	Cry J2 - DNA - LAMP	Cry J2 (Cedro Vermelho Japonês)	4 Administrações intervaladas por períodos de 14 dias	Intradérmica com recurso a Bioinjetor	1,08 a 2,16 mg de plasmídeo	IC
	ASP0892	ARA h1, h2 e h3 (principais alérgenos do amendoim)	4 Administrações intervaladas por períodos de 14 dias	Intramuscular ou Intradérmica	-	I
Vacinas associadas à tecnologia CpG	TOLAMBA™	Amb a1 (Rinite sazonal)	6 Administrações intervaladas por períodos de 7 dias	Subcutânea	Doses "elevadas" ou "baixas" (3 a 30 μ g)	II
	Q β G10	Sem alérgeno	6 Administrações intervaladas por períodos de 7 dias	Subcutânea	300 μ g de VLP's	I / IIIA

9. Conclusão

As vacinas genéticas, tanto as vacinas de DNA como as vacinas de mRNA, tal como foi abordado anteriormente, apresentam um grande potencial terapêutico ao nível das reações alérgicas do tipo I, daí que tenham como alvo indivíduos jovens alérgicos de modo a proporcionar-lhes uma maior qualidade de vida.

Os estudos clínicos, aos dias de hoje, ainda estão numa fase inicial de desenvolvimento. Contudo, alguns dos resultados revelados demonstram que as vacinas genéticas acopladas a diversas estratégias de otimização, como por exemplo a tecnologia LAMP e a associação a sequências imunomoduladoras CpG, poderão vir a ser ferramentas farmacêuticas importantes para indivíduos alérgicos.

Em concreto, os resultados revelados pelo estudo da tecnologia das sequências CpG que, tanto na presença do alérgeno como isoladamente, proporcionam um tratamento inespecífico para diferentes alergias, isto é, revelam capacidade de induzir nos indivíduos sensíveis tolerância a uma diversidade de alérgenos. Porém, é necessário ter presente que a ausência de alérgenos no tratamento só é eficaz para reações alérgicas a alérgenos recorrentes e frequentes na natureza.

Já a tecnologia LAMP, através do direcionamento do alérgeno para o compartimento lisossômico, bloqueia a libertação e a circulação sistémica do alérgeno, permitindo reeducar o sistema imunológico dos indivíduos alérgicos, ao mesmo tempo que se impedem alguns efeitos colaterais, nomeadamente choques anafiláticos, associados a outros tratamentos, o que torna esta tecnologia mais segura e bem tolerada, e conseqüentemente, mais bem aceite pela população de indivíduos alérgicos.

Além disso, as vacinas genéticas para as alergias, tendo em conta alguns dos resultados já obtidos, revelam que o número de imunizações necessárias para tornar um indivíduo alérgico em tolerante ao alérgeno é reduzido, pelo que para se ter um tratamento eficaz na prevenção das alergias basta um pequeno número de imunizações.

Não obstante, embora os desenvolvimentos atuais demonstrem resultados bastante promissores, ainda existem muitas dúvidas e perguntas sem resposta na comunidade científica. Deste modo, é crucial que estas vacinas sejam totalmente seguras e inócuas para o Homem, dado que ao serem uma abordagem, tendencialmente terapêutica e preventiva de reações alérgicas do tipo I, tendem a vir a ser administradas, no futuro, a crianças e jovens alérgicos.

Em suma, é imprescindível avaliar a segurança e a eficácia a curto e a longo prazo deste tipo de vacinas, o que requer a realização de mais desenvolvimentos e ensaios clínicos no futuro, para que possam vir a ser, na área das reações alérgicas do tipo I, uma estratégia terapêutica inovadora e disponível no mercado.

Bibliografia

1. EUROPEAN ACADEMY OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY - **A European Declaration on Immunotherapy.** *Journal of Chemical Information and Modeling.* ISSN 1098-6596. 53:(2019) 1–28. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
2. RIEDLER, J., BRAUN-FAHRLÄNDER, C., EDER, W., SCHREUER, M., WASER, M., MAISCH, S., CARR, D., SCHIERL, R., NOWAK, D., VON MUTIUS, E. - **Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: A cross-sectional survey.** *Lancet.* 358:9288 (2001) 1129–1133. doi: 10.1016/S0140-6736(01)06252-3.
3. EGE, M. J., FREI, R., BIELI, C., SCHRAM-BIJKERK, D., WASER, M., BENZ, M. R., WEISS, G., NYBERG, F., VAN HAGE, M., PERSHAGEN, G., BRUNEKREEF, B., RIEDLER, J., LAUENER, R., BRAUN-FAHRLÄNDER, C.; MUTIUS, E. VON - **Not all farming environments protect against the development of asthma and wheeze in children.** *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 119:5 (2007) 1140–1147. doi: 10.1016/j.jaci.2007.01.037.
4. **Epidemiology of Allergies** - [Acedido a 28 de janeiro de 2020]. Disponível em: <https://www.news-medical.net/health/Epidemiology-of-Allergies.aspx>
5. PAWANKAR, R., CANONICA, G., HOLGATE, S., LOCKEY, R. - **White Book on Allergy.** World Allergy Organization.
6. BACKMAN, H., RÄISÄNEN, P., HEDMAN, L., STRIDSMAN, C., ANDERSSON, M., LINDBERG, A., LUNDBÄCK, B., RÖNMARK, E. - **Increased prevalence of allergic asthma from 1996 to 2006 and further to 2016 - results from three population surveys.** *Clinical and Experimental Allergy.* 47:11 (2017) 1426–1435. doi: 10.1111/cea.12963.
7. JOHANSSON, S. G. O., BIEBER, T., DAHL, R., FRIEDMANN, P., LANIER, B., LOCKEY, R., MOTALA, C., ORTEGA MARTELL, J., PLATTS-MILLS, T., RING, J., THIEN, F., VAN CAUWENBERGE, P., HYWEL, C. - **Revised Nomenclature for Allergy for Global Use.** *Allergy & Clinical Immunology International - Journal of the World Allergy Organization.* ISSN 0838-1925. 17:01 (2005) 4–8. doi: 10.1027/0838-1925.17.1.4.
8. **Allergies - NHS** - [Acedido a 28 de fevereiro de 2020]. Disponível em: <https://www.nhs.uk/conditions/allergies/>
9. **Tipos de Alergias - Inmunotek** - [Acedido a 23 de fevereiro de 2020]. Disponível em: <https://www.inmunotek.com/pt-pt/alergia-descricao/tipos-de-alergias/>
10. GALLI, S. J., TSAI, M., PILIPONSKY, A. M. - **The development of allergic**

inflammation. Nature. ISSN 14764687. 454:7203 (2008) 445–454. doi: 10.1038/nature07204.

11. VETTER, V., DENIZER, G., FRIEDLAND, L. R., KRISHNAN, J., SHAPIRO, M. - **Understanding modern-day vaccines: what you need to know.** Annals of Medicine. ISSN 13652060. 50:2 (2018) 110–120. doi: 10.1080/07853890.2017.1407035.

12. FERRARO, B., MORROW, M. P., HUTNICK, N. A., SHIN, T. H., LUCKE, C. E., WEINER, D. B. - **Clinical applications of DNA vaccines: Current progress.** Clinical Infectious Diseases. ISSN 10584838. 53:3 (2011) 296–302. doi: 10.1093/cid/cir334.

13. PARDI, N., HOGAN, M. J., PORTER, F. W., WEISSMAN, D. - **mRNA vaccines-a new era in vaccinology.** Nature Reviews Drug Discovery. ISSN 14741784. 17:4 (2018) 261–279. doi: 10.1038/nrd.2017.243.

14. HARTL, A., KIESSLICH, J., WEISS, R., BERNHAUPT, A., MOSTBÖCK, S., SCHEIBLHOFER, S., EBNER, C., FERREIRA, F.; THALHAMER, J. - **Immune responses after immunization with plasmid DNA encoding Bet v I, the major allergen of birch pollen.** Journal of Allergy and Clinical Immunology. ISSN 00916749. 103:11 (1999) 107–113. doi: 10.1016/S0091-6749(99)70533-6.

15. SCHEIBLHOFER, S., THALHAMER, J., WEISS, R. - **DNA and mRNA vaccination against allergies.** Pediatric Allergy and Immunology. 29:7 (2018) 679–688. doi: 10.1111/pai.12964.

16. WEISS, R., SCHEIBLHOFER, S., GABLER, M., FERREIRA, F., LEITNER, W.W., THALHAMER, J. - **Is Genetic Vaccination against Allergy Possible?** International Archives of Allergy and Immunology. ISSN 1018-2438. 139:4 (2006) 332–345. doi: 10.1159/000091946.

17. **Sistema complemento - Imunologia; distúrbios alérgicos** - [Acedido a 16 de abril de 2020]. Disponível em: <https://www.msmanuals.com/pt-pt/profissional/imunologia-distúrbios-alérgicos/biologia-do-sistema-imunitário/sistema-complemento>

18. HATTINGER, E., SCHEIBLHOFER, S., ROESLER, E., THALHAMER, T., THALHAMER, J., WEISS, R. - **Prophylactic mRNA Vaccination against Allergy Confers Long-Term Memory Responses and Persistent Protection in Mice.** Journal of Immunology Research. ISSN 23147156. 2015:(2015). doi: 10.1155/2015/797421.

19. PULSAWAT, P., JACQUET, A. - **Is electroporation decisive for the efficacy of**

DNA vaccine against house dust mite allergy? Expert review of vaccines. ISSN 17448395. 12:9 (2013) 977–979. doi: 10.1586/14760584.2013.824710.

20. NICOLSON, K. S., STREETER, H. B., VERHAGEN, J., SABATOS-PEYTON, C. A., MORGAN, D.J., WRAITH, D. C. - **Negative feedback control of the autoimmune response through antigen-induced differentiation of IL-10-secreting Th1 cells.** Journal of Experimental Medicine. 206:8 (2009) 1755–1767. doi: 10.1084/jem20082118.

21. JONGEJAN, L., VAN REE, R., POULSEN, L. K. - **Hypoallergenic molecules for subcutaneous immunotherapy.** Expert Review of Clinical Immunology. ISSN 17448409. 12:1 (2016) 5–7. doi: 10.1586/1744666X.2016.1103182.

22. HOCHREITER, R., STEPANOSKA, T., FERREIRA, F., VALENTA, R., VRTALA, S., THALHAMER, J.; HARTL, A. - **Prevention of allergen-specific IgE production and suppression of an established Th2-type response by immunization with DNA encoding hypoallergenic allergen derivatives of Bet v 1, the major birch-pollen allergen.** European Journal of Immunology. ISSN 00142980. 33:6 (2003) 1667–1676. doi: 10.1002/eji.200323377.

23. DRAGHI, M., JARMAN, E. R., GRIFANTINI, R., GALLI-STAMPINO, L., LAMB, J. R., VALIANTE, N. M., GRANDI, G. - **Different profile of CD8+ effector T cells induced in Der p 1-allergic and naïve mice by DNA vaccination.** European Journal of Immunology. ISSN 00142980. 32:12 (2002) 3720–3728. doi: 10.1002/1521-4141(200212)32:12<3720::AID-IMMU3720>3.0.CO;2-J.

24. ARRUDA, L. B., SIM, D., CHIKHLIKAR, P. R.; MACIEL, M., AKASAKI, K., AUGUST, J. T., MARQUES, E. T. A. - **Dendritic Cell-Lysosomal-Associated Membrane Protein (LAMP) and LAMP-1-HIV-1 Gag Chimeras Have Distinct Cellular Trafficking Pathways and Prime T and B Cell Responses to a Diverse Repertoire of Epitopes.** The Journal of Immunology. 177:4 (2006) 2265–2275. doi: 10.4049/jimmunol.177.4.2265.

25. ROESLER, E., WEISS, R., WEINBERGER, E. E., FRUEHWIRTH, A., STOECKLINGER, A., MOSTBÖCK, S., FERREIRA, F., THALHAMER, J., SCHEIBLHOFER, S. - **Immunize and disappear-Safety-optimized mRNA vaccination with a panel of 29 allergens.** Journal of Allergy and Clinical Immunology. 124:5 (2009) 1070–1077. doi: 10.1016/j.jaci.2009.06.036.

26. KREITER, S., SELMI, A., DIKEN, M., KOSLOWSKI, M., BRITTEN, C. M., HUBER, C., TÜRECI, Ö., SAHIN, U. - **Intranodal vaccination with naked antigen-encoding RNA elicits potent prophylactic and therapeutic antitumoral immunity.** Cancer Research.

70:22 (2010) 9031–9040. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0699.

27. WEISS, R.; SCHEIBLHOFER, S.; THALHAMER, J. - **What is the antiallergic potential of DNA vaccination?** Immunotherapy. 7:6 (2015) 587–590. doi: 10.2217/imt.15.26.

28. TOIT, G., ROBERTS, G., SAYRE, P. H., BAHNSON, H. T., RADULOVIC, S., SANTOS, A. F., BROUGH, H. A., PHIPPARD, D., BASTING, M., FEENEY, M., TURCANU, V., SEVER, M. L., LORENZO, M. G., PLAUT, M., LACK, G. DU - **Randomized trial of peanut consumption in infants at risk for peanut allergy.** New England Journal of Medicine. 372:9 (2015) 803–813. doi: 10.1056/NEJMoa1414850.

29. DEATON, A. M., BIRD, A. - **CpG islands and the regulation of transcription.** Genes and Development. ISSN 08909369. 25:10 (2011) 1010–1022. doi: 10.1101/gad.2037511.

30. EUROPEAN MEDICINES AGENCY - **Scientific guidelines** - [Acedido a 30 de abril de 2020]. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/scientific-guidelines>

31. EUROPEAN MEDICINES AGENCY - EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 - **Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products.** European Medicines Agency Guidelines. 44:March (2018) 1–41.

32. EUROPEAN MEDICINES AGENCY - EMEA/CHMP/308136/2007 - **Concept paper on guidance for DNA vaccines.** European Medicines Agency Guidelines. 44:March (2012) 7–9.

33. **A Safety and Immunogenicity Phase I Study of CryJ2-DNA-Lysosomal Associated Membrane Protein (CryJ2 -DNA-LAMP) Plasmid** - [Acedido a 12 de maio de 2020]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01707069>

34. **A Safety and Immunogenicity Phase IB Study of CryJ2-DNA-Lysosomal Associated Membrane Protein (CryJ2 -DNA-LAMP) Plasmid Assessing the Long Term Safety of Previously Treated Subjects - Full Text View** - [Acedido a 12 de maio de 2020]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01966224>

35. **A safety and immunogenicity phase Ic study of CryJ2 -DNA-LAMP plasmid vaccine for assessment of intradermal (ID) route of administration using the Biojector 2000 device.** Bethesda, MD: National Library of Medicine (US) - (2014).

36. **A Study of ASP4070 to Confirm Safety and Immunological Response in**

Patients With Pollen Allergy - [Acedido a 12 de maio de 2020]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/show/NCT02469688>

37. **A study to evaluate safety, tolerability and immune response in adults allergic to peanut after receiving intradermal or intramuscular administration of ASP0892 (ARA-LAMP-vax), a single multivalent peanut (Ara h1, h2, h3) Lysosomal Associated Membrane Pro** - [Acedido a 12 de maio de 2020]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02851277>

38. CAMPBELL, J. D., BUCHMANN, P., KESTING, S., CUNNINGHAM, C. R., COFFMAN, R. L., HESSEL, E. M. - **Allergen-specific T cell responses to immunotherapy monitored by CD154 and intracellular cytokine expression**. *Clinical and Experimental Allergy*. ISSN 09547894. 40:7 (2010) 1025–1035. doi: 10.1111/j.1365-2222.2010.03505.x.

39. **Efficacy and Safety Study of TOLAMBA™ in Ragweed-Allergic Adults - Full Text View** - [Acedido a 12 de maio de 2020]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00387738>

40. **Effect of an Allergen Vaccine in Patients With Allergic Rhino-Conjunctivitis and Asthma Due to House Dust Mite Allergy** - [Acedido a 12 de maio de 2020]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00652223>

41. BEEH, K. M., KANNIESS, F., WAGNER, F., SCHILDER, C., NAUDTS, I., HAMMANN-HAENNI, A., WILLERS, J., STOCKER, H., MUELLER, P., BACHMANN, M. F., RENNER, W. A. - **The novel TLR-9 agonist QbG10 shows clinical efficacy in persistent allergic asthma**. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. ISSN 00916749. 131:3 (2013) 866–874. doi: 10.1016/j.jaci.2012.12.1561.

42. **CYT003-QbG10, a TLR9-agonist, for Treatment of Uncontrolled Moderate to Severe Allergic Asthma - Full Text View** - [Acedido a 12 de maio de 2020]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01673672>