



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Renato André Saraiva Santos

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “A influência do alelo épsilon 4 do gene da apolipoproteína E na predisposição para o desenvolvimento da doença de Alzheimer” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Isabel Folhas e da Professora Doutora Armanda Emanuela Castro e Santos, 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

Renato André Saraiva Santos


Relatório de Estágio e Monografia intitulada “A influência do alelo épsilon 4 do gene da apolipoproteína E na predisposição para o desenvolvimento da doença de Alzheimer” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Isabel Folhas e da Professora Doutora Armanda Emanuela Castro e Santos 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

Eu, Renato André Saraiva Santos, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2015239928, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “A influência do alelo épsilon 4 do gene da apolipoproteína E na predisposição do desenvolvimento da doença de Alzheimer” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 18 de setembro de 2020.



(Renato André Saraiva Santos)

Agradecimentos

A Coimbra, a cidade que sempre terei na memória como a minha segunda casa.

Ao corpo docente e não docente da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, por todo o auxílio no meu percurso académico.

À Dra. Isabel Maria Fresco Folhas, por me permitir realizar o estágio na sua farmácia e por todo o conhecimento que me transmitiu ao longo desse período. A toda a equipa técnica da farmácia, por toda a ajuda, conhecimento e amizade que me foi transmitida.

À Professora Doutora Armanda Santos, pelo exemplo de docente que é e por toda a excelente orientação e acompanhamento que me deu ao longo deste projeto.

Ao meu colega de casa, Tiago Pinheiro. Foi um prazer partilhar a Tasca do Pinto contigo.

A todos os meus amigos, que sempre estiveram presentes ao longo de toda esta aventura e que permitiram torná-la num passeio entre amigos.

A toda a minha família, por sempre puxarem por mim e me permitirem crescer como pessoa e como futuro profissional de saúde.

Aos pais e avós da Sara, por, desde o dia que me conheceram, fazerem-me sentir parte da família. Foram sem dúvida uma grande ajuda nesta caminhada.

Aos meus avós, Emília, Isabel, Pedro e António, por tudo o que me deram. Vou guardar o vosso amor para sempre no meu coração.

À minha namorada, Sara, por ser, desde o dia que a conheci, um dos pilares mais importantes, não só neste percurso, mas da minha vida. Obrigado por toda a amizade, companheirismo e amor.

Ao meu irmão, Nuno, por toda a boa influência e conhecimento que me transmitiu. Espero contar contigo, e que sintas que podes contar comigo, para tudo o que ainda está por vir.

Aos meus pais, Olga e Rui, por todo o apoio que me deram até hoje e por toda a educação que me concederam. Sem vocês nada disto seria possível e nunca terei palavras suficientes para vos agradecer. Espero um dia vir a ser tudo aquilo que vocês são.

A todos vocês, um sincero e eterno Obrigado.

ÍNDICE

PARTE I

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

LISTA DE ABREVIATURAS	7
1. INTRODUÇÃO	8
2. ANÁLISE SWOT	9
2.1. PONTOS FORTES.....	9
2.1.1. LOCALIZAÇÃO DA FARMÁCIA	9
2.1.2. UTENTES.....	9
2.1.3. EQUIPA TÉCNICA.....	10
2.1.4. CERTIFICAÇÃO DA FARMÁCIA	10
2.1.5. AUTOMATIZAÇÃO DA FARMÁCIA.....	10
2.1.6. PLANIFICAÇÃO DO ESTÁGIO	11
2.2. PONTOS FRACOS	12
2.2.1. INSEGURANÇA NO ATENDIMENTO.....	12
2.2.2. PROGRAMA SIFARMA 2000®	13
2.2.3. AUTOMATIZAÇÃO DA FARMÁCIA – SISTEMA CUBE+®	13
2.3. OPORTUNIDADES	14
2.3.1. FORMAÇÕES	14
2.3.2. ATIVIDADES TEMÁTICAS.....	14
2.3.3. METODOLOGIA KAIZEN	14
2.3.4. PROGRAMA VALORMED®	15
2.3.5. PAPEL DO FARMACÊUTICO	15
2.4. AMEAÇAS.....	16
2.4.1. MEDICAMENTOS ESGOTADOS.....	16
2.4.2. MERCADO COMPETITIVO	16
2.4.3. ESTADO DE PANDEMIA E COMUNICAÇÃO SOCIAL.....	17
3. CASOS PRÁTICOS	18
3.1 CASO PRÁTICO 1	18
3.2 CASO PRÁTICO 2.....	18
4. CONCLUSÃO.....	20
5. BIBLIOGRAFIA.....	21
6. ANEXOS.....	22
ANEXO I – FICHA DE PREPARAÇÃO DO MEDICAMENTO MANIPULADO	22
ANEXO II – IDEIA INOVADORA DO PLANO DE ESTÁGIO	27
ANEXO III – CARTA ENVIADA ÀS FARMÁCIAS PELO DIRETOR GERAL DA VALORMED®	28

PARTE II

MONOGRAFIA

LISTA DE ABREVIATURAS	30
RESUMO.....	31
ABSTRACT	32
1. INTRODUÇÃO	33
2. DOENÇA DE ALZHEIMER.....	34
2.1 CONTEXTUALIZAÇÃO HISTÓRICA	34
2.2 EPIDEMIOLOGIA	34
2.3 FASES DA DOENÇA E RESPECTIVA SINTOMATOLOGIA.....	35
2.4 FORMAS DA DOENÇA E FATORES DE RISCO.....	35
2.5 FISIOPATOLOGIA	36
2.6 PATOLOGIA AMILOIDE.....	36
2.7 PATOLOGIA DA TAU	38
2.8 FATOR GENÉTICO DA APOE: ALELO ÉPSILON 4.....	39
3 INFLUÊNCIA DA APOE4 NA DA – PATOLOGIAS AMILOIDE E DA TAU.....	41
3.1 NA PATOLOGIA AMILOIDE.....	41
3.2 NA PATOLOGIA DA TAU.....	42
4 INFLUÊNCIA DA APOE4 NA DA – OUTROS MECANISMOS.....	43
4.1 NEUROINFLAMAÇÃO.....	43
5 ABORDAGENS TERAPÊUTICAS DIRECIONADAS À APOE4.....	44
5.1 EDIÇÃO GENÉTICA DA APOE4 PELA TÉCNICA CRISPR/CAS9.....	44
5.2 IMUNOTERAPIA ANTI – APOE4	45
5.3 TERAPIA TENDO COMO ALVO A NEUROINFLAMAÇÃO	45
5.4 PEPTÍDEOS MIMÉTICOS DA APOE	46
6 CONCLUSÃO	47
7 BIBLIOGRAFIA.....	48

PARTE I

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

LISTA DE ABREVIATURAS

ANF – Associação Nacional de Farmácias

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FIF – Farmácia Isabel Folhas

HDL – *High Density Lipoproteins*

IPAC – Instituto Português da Acreditação

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MSRM – Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. INTRODUÇÃO

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) contempla, no seu plano de estudos, um estágio final, em farmácia comunitária, que permite ao estagiário, enquanto futuro farmacêutico, contactar de uma forma mais direta com a realidade desta profissão ¹.

O farmacêutico de farmácia comunitária tem vindo a orientar-se, de dia para dia, cada vez mais no sentido do bem-estar do cidadão. Tem, por isso, a responsabilidade de prestar ao utente o maior número de serviços, com a melhor qualidade possível tentando, a todo o momento, que todos os seus conhecimentos adquiridos durante a etapa curricular sejam aplicados no dia-a-dia ².

Devido à vasta cobertura atual das farmácias comunitárias ao longo do país, são prestados diariamente à população vários serviços, como dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) e não sujeitos a receita médica (MNSRM), medição de parâmetros bioquímicos como a glicémia e colesterol total, aconselhamento e revisão farmacêutica, administração de injetáveis, entre outros ².

A farmácia comunitária é vista pelo cidadão como uma alternativa a outros serviços de saúde que não consigam ser tão céleres e presentes na sua vida. Esta alternativa apenas se poderá manter válida enquanto for baseada num serviço sólido e de qualidade por parte de todos os farmacêuticos.

O farmacêutico, enquanto agente da saúde pública e profissional altamente competente em farmacologia, deve garantir a boa utilização do medicamento e a promoção da literacia em saúde numa sociedade que, cada vez mais, procura estar atualizada em relação a este tema ³.

O estágio doravante apresentado foi realizado na Farmácia Isabel Folhas (FIF) e orientado pela Dra. Isabel Maria Fresco Folhas. Os principais fatores em que se baseou a escolha por esta farmácia foram a sua localização, a quantidade de utentes que a frequentam e ainda a sua reputação de farmácia que se preza pelo trabalho de qualidade, dedicação e simpatia dos profissionais que nela trabalham.

Ao longo deste relatório irá ser realizada uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) do respetivo estágio para, dessa forma, ser possível realçar todos os aspetos e conclusões que, sem qualquer dúvida, sustentaram este período de aprendizagem.

2. ANÁLISE SWOT

2.1. PONTOS FORTES

2.1.1. LOCALIZAÇÃO DA FARMÁCIA

Localizada na Rua Carolina Michaelis, e fazendo parte do bairro da Solum, a FIF faz parte de um edifício rodeado de vários locais de interesse para a população, como é o caso das grandes superfícies comerciais Atrium Solum, Gira Solum Galerias e Alma Shopping, de locais de ensino como jardins de infância, escolas primárias, secundárias e superior, pastelarias, e muitos outros que fazem com que a adesão da população a esta zona de Coimbra seja bastante elevada.

Em termos pessoais, esta localização também se revelou bastante favorável dada a proximidade à minha residência, permitindo assim uma melhor organização dos horários de estágio.

2.1.2. UTENTES

A FIF possui, atualmente, um leque bastante significativo de utentes, sendo a sua grande maioria fidelizados e com “ficha de cliente” criada, devido também ao ponto referido acima (2.1.1). Este fator permite à equipa técnica da farmácia aceder ao histórico farmacológico de cada utente e, assim, prestar o melhor serviço de atendimento e aconselhamento possível, minimizando erros de medicação.

Devido ao facto de existir esse leque alargado de utentes a frequentar a farmácia, a variedade etária também é muito grande, permitindo aos estagiários contactar desde cedo com várias patologias, contribuindo assim para uma formação mais completa.

Outro aspeto associado aos utentes, é o da FIF integrar o programa Farmácias Portuguesas, pertencente à Associação Nacional de Farmácias (ANF), permite criar uma maior relação da equipa técnica com os utentes, uma vez que, ao terem o cartão deste programa, podem acumular pontos e posteriormente usufruir de descontos nas suas compras ou em produtos de saúde e bem-estar.

2.1.3. EQUIPA TÉCNICA

Apesar de ser um ponto de alguma preocupação inicial, a integração numa nova equipa de trabalho revelou-se bastante positiva. A adaptação foi sendo cada vez mais facilitada ao longo do tempo, visto que, desde o primeiro dia todos os profissionais da farmácia se colocaram à disposição para o esclarecimento de todas as dúvidas e métodos de trabalho, transmitindo de uma forma magnífica todos os seus conhecimentos.

E toda essa disponibilidade, atenção e simpatia existe, não só entre todos os funcionários, mas também é transmitida para o lado oposto do balcão e esse foi um aspeto vital em todo este percurso. Esta enorme capacidade de prestar cuidado no atendimento e sentimento constante de ajuda ao utente, que está intrínseca, não só na Dra. Isabel Folhas, mas em cada uma das pessoas que trabalha nesta farmácia, faz desta um local de confiança e de apoio a todas as pessoas que por ela passem.

2.1.4. CERTIFICAÇÃO DA FARMÁCIA

A FIF, sendo uma farmácia centrada no rigor, trabalho e dedicação ao utente, tem como modelo uma dupla certificação de gestão da qualidade disponibilizada na norma NP EN ISO 9001. Esta acreditação é efetuada pelo Instituto Português da Acreditação (IPAC)⁴ e pelas Boas Práticas de Farmácia Comunitária, aprovadas pelo Conselho Nacional da Qualidade⁵.

Todas estas normas foram devidamente transmitidas desde o início do estágio, uma vez que têm de ser seguidas sistematicamente para permitir à FIF aumentar e melhorar a fiabilidade e o desempenho de todos os seus serviços, conferindo-lhe uma posição de liderança e um sentimento de confiança perante cada utente, devido à uniformidade de metodologias adotada.

2.1.5. AUTOMATIZAÇÃO DA FARMÁCIA

Sendo um aspeto cada vez mais presente em todas as farmácias nos dias de hoje, também a FIF se mantém atualizada relativamente a tecnologias de auxílio de tarefas. Exemplos deste investimento na inovação são os casos do *robot* modular *Cube+*[®] e do sistema *CashGuard*[®].

Inicialmente foi possível uma interação mais detalhada com o *robot* modular *Cube+*[®], pois é o que está associado à receção e armazenamento de encomendas. Sendo um *robot*

modular, este equipamento pode ser aumentado ou organizado de várias formas sempre que desejado, consoante as necessidades⁶. É, indubitavelmente, uma tecnologia que facilita o trabalho a todos os colaboradores da FIF, uma vez que permite, não só fazer a receção e armazenamento de encomendas muito mais rapidamente e com menos erros, mas também fornecer os medicamentos junto aos balcões de atendimento, visto que está associado ao programa *Sifarma 2000*[®].

O sistema *CashGuard*[®], por sua vez, consiste numa plataforma onde se armazena o lucro monetário físico das vendas e, mais uma vez, representa uma tecnologia que facilita imenso o trabalho a todos os colaboradores da FIF, permitindo um atendimento mais célere e com menor erro associado, pois armazena cada pagamento e calcula o respetivo troco.

Ainda em relação à automatização, esta também é bastante importante no controlo de temperatura, luminosidade e ainda percentagem de humidade em cada secção da farmácia.

2.1.6. PLANIFICAÇÃO DO ESTÁGIO

O método de organização do estágio e orientação lógica da evolução do trabalho na FIF aqui apresentado, revelou-se, também, crucial na interiorização cuidada de todos os conhecimentos transmitidos. Ao ter em consideração a necessidade de evitar um excesso de informação, foi possível planear as várias etapas do estágio de um modo regulado e faseado, permitindo uma aprendizagem contínua e eficaz.

Nas primeiras semanas de estágio, o trabalho baseou-se na receção e armazenamento de encomendas, bem como na familiarização com o programa *Sifarma 2000*[®] e com o *robot* modular *Cube+*[®]. Nesta fase foi, ainda, requisitada a devida arrumação de todos os produtos que não pertenciam ao *robot*, permitindo conhecer os nomes comerciais dos produtos e as formas farmacêuticas, pois muitos desses produtos estão organizados nas gavetas e nas prateleiras por classes de substâncias ativas ou formas farmacêuticas.

Numa segunda fase, já com maior adaptação ao processo de entrada de encomendas, iniciou-se a organização de reservas e deu-se baixa destas no *Sifarma 2000*[®], a medição da tensão arterial aos utentes e a interpretação dos respetivos valores. Foi, ainda, possível adquirir conhecimentos na medição de parâmetros bioquímicos como o colesterol total, colesterol-HDL, glicémia, entre outros. Tais serviços permitem aos farmacêuticos da FIF manter um registo destes valores na ficha de cada utente permitindo assim um melhor acompanhamento da evolução do estado de saúde de cada um.

Um dos pontos mais importantes do estágio consistiu no atendimento ao utente. Devido ao facto de me ter sido possibilitado o acompanhamento deste processo, por parte dos vários funcionários da farmácia desde os primeiros dias do estágio, toda esta fase de atendimento com supervisão decorreu de forma mais natural no que diz respeito à comunicação com os utentes. De referir o apoio extraordinário de todos os funcionários, o que constituiu uma base sólida para uma evolução considerável de dia para dia, permitindo um atendimento cada vez mais autónomo.

Esta etapa ficou, infelizmente, marcada por uma suspensão abrupta, consequência das medidas de confinamento inerentes à imposição do Estado de Emergência, face à COVID-19.

Com o regresso ao estágio foi retomado o atendimento ao público e surgiu a oportunidade de produzir um manipulado, mais concretamente, uma pomada de enxofre a 7% para uso no combate à sarna e, ainda, o preenchimento da respetiva ficha de preparação (Anexo I).

Já na parte final do estágio, fui desafiado a ter uma ideia inovadora para a farmácia, à qual penso ter correspondido com sucesso, tendo proposto duas possíveis futuras melhorias relativamente ao programa *Sifarma 2000*[®] (Anexo II).

Toda esta organização e planeamento faseado do estágio foi, sem dúvida, fundamental para uma aprendizagem contínua e significativa realçando o plano de estágio como um dos pontos fortes desta análise.

2.2. PONTOS FRACOS

2.2.1. INSEGURANÇA NO ATENDIMENTO

Apesar da excelente preparação a nível teórico conferida pelo curso de MICEF, o atendimento ao público foi o aspeto que levou a uma maior insegurança, já que implica a aplicação prática de todos os conhecimentos adquiridos ao longo do curso, sendo estes mais relevantes para o estágio, pelo que era expectável iniciar a fase do atendimento aos utentes com alguma hesitação.

Também o facto da presença dos estagiários ser uma novidade para os utentes, cria sempre alguma desconfiança nestes, que vai diminuindo ao longo do estágio devido ao facto de o próprio estagiário conseguir cada vez mais transmitir um sentimento de segurança.

Apesar de tudo, e com a ajuda de todos os funcionários da farmácia, foi possível melhorar os métodos de trabalho aplicados, tornando o atendimento mais célere, competente e confiante.

As áreas de cosmética, veterinária, pensos e dispositivos médicos revelaram-se as mais desafiantes no que diz respeito ao atendimento e seria vantajoso reforçar o curso de MICF nestas mesmas áreas, para permitir que os próximos alunos a realizarem estágios se sintam mais confiantes e possam aconselhar melhor as pessoas no momento do atendimento.

2.2.2. PROGRAMA SIFARMA 2000®

Outro aspeto que necessitou de bastante prática para ultrapassar algumas dificuldades iniciais, está relacionado com a utilização do programa *Sifarma 2000*®. A utilização prática deste programa deveria ser mais incentivada, assumindo uma maior relevância durante o curso de MICF, uma vez que o número de horas de aulas práticas e de computadores disponíveis na faculdade com o *Sifarma 2000*® é insuficiente.

Verificando-se uma maior abordagem na utilização deste programa ao longo do curso, especialmente no último ano (para diminuir o espaço temporal até ao estágio), permitirá aos estudantes sentirem-se muito mais à vontade aquando do início do estágio.

2.2.3. AUTOMATIZAÇÃO DA FARMÁCIA – SISTEMA CUBE+®

Apesar da tecnologia do *robot* modular *Cube+*® ser bastante útil para a farmácia em vários aspetos, como supracitado no ponto 2.1.5, foi possível presenciar algumas falhas do mesmo, mais concretamente, bloqueios ocasionais do equipamento, causando uma suspensão do atendimento aos utentes que estavam à espera da medicação e um atraso na reposição de embalagens dentro do próprio *robot*.

Tais anomalias foram prontamente resolvidas com a necessária manutenção do *robot*, o que minimizou os bloqueios do equipamento, possibilitando o funcionamento de toda a operação da farmácia muito próximo do normal e desejado.

É, portanto, uma tecnologia que, apesar dos seus erros, compensa bastante, pois permite uma maior celeridade em todos os aspetos no qual está envolvido.

2.3. OPORTUNIDADES

2.3.1. FORMAÇÕES

Ao longo do presente estágio surgiu a oportunidade de participar em várias formações, sendo a maior parte na área da cosmética, mas também de produtos de venda livre, por exemplo, suplementos alimentares. Foi o caso da formação da *Pharma Nord*[®], designadamente, dos produtos *BioActivo*[®], o que permitiu ficar a conhecer toda esta linha de suplementos, sobre os quais, bastantes vezes, são pedidos esclarecimentos por parte dos utentes.

Este tipo de formações apresenta-se como uma ótima oportunidade para estagiários e farmacêuticos se manterem atualizados sobre todos os produtos que são vendidos nas farmácias e, dessa forma, maximizar a qualidade dos atendimentos e aconselhamentos.

2.3.2. ATIVIDADES TEMÁTICAS

Durante este estágio, também foi possível fazer parte das atividades temáticas organizadas mensalmente pela FIF.

Tais atividades baseiam-se nos temas indicados pela ANF e, posteriormente, o funcionário responsável em determinado mês organiza as ditas atividades. Como bons exemplos, é possível indicar o mês da nutrição, em que foram oferecidas maçãs aos utentes que estivessem interessados, para sensibilizar as refeições saudáveis, ou ainda o dia da mulher em que se ofereceram kits de maquilhagem às utentes interessadas.

Fará sentido concluir que tais atividades permitem aos funcionários da FIF uma maior interação com os utentes, aumentando a sua confiança pela farmácia.

2.3.3. METODOLOGIA KAIZEN

Kaizen é um vocábulo japonês que significa "melhoria contínua". Através desta metodologia, são criados hábitos que permitem à equipa da FIF remar toda no mesmo sentido.

Tais hábitos foram prontamente apresentados e explicados nas primeiras semanas do estágio, dos quais se poderá destacar a organização do espaço por zonas de tarefas: o local da reposição, a zona de reservas, a zona da documentação e o quadro *kaizen*, onde são colocadas informações importantes a serem dadas a cada membro da FIF.

Desta forma, os funcionários sabem onde encontrar tudo aquilo de que necessitam, conseguindo um trabalho mais rápido, eficiente e, idealmente, sem erros.

2.3.4. PROGRAMA VALORMED®

O programa *Valormed*® refere-se à gestão de resíduos de embalagens vazias e medicamentos fora de uso, que as pessoas decidem deixar na farmácia ⁷.

Verifica-se que, sem dúvida alguma, se trata de um programa bem aceite pela comunidade pois, ao longo do dia, surgia a necessidade de preparar vários novos contentores, o que reflete a preocupação dos utentes com a preservação do ambiente e a proteção da saúde pública.

Toda esta atenção prestada pelos utentes em relação ao programa *Valormed*® é despertada pelos funcionários da FIF, que incentivam diariamente as pessoas a fazer esta gestão dos resíduos.

Apesar de tudo, e como descrito na carta enviada às farmácias pelo Diretor Geral da *Valormed*® (Anexo III), muito caminho está, ainda, por percorrer, já que em 2019 apenas 16% dos resíduos de embalagens e medicamentos foram recolhidos, relativamente ao número de produtos colocados no mercado. Tal percentagem reflete a enorme margem de progressão e oportunidade naquilo que é o papel fundamental do farmacêutico em incentivar a população a proceder a uma gestão mais responsável e cuidada de todos estes resíduos.

2.3.5. PAPEL DO FARMACÊUTICO

Tal como indicado anteriormente, as últimas semanas do estágio aqui apresentado foram severamente limitadas devido à pandemia da COVID-19. Foi mais um marco que veio reforçar o papel do farmacêutico na sociedade, revelando-se fulcral, nomeadamente, perante estes acontecimentos, para o bem-estar da comunidade, tranquilizando e sensibilizando todos aqueles que procuram e necessitam de apoio nestes períodos difíceis.

Sendo que, parte do trabalho deste estágio foi realizado já após o início da pandemia, foi possível observar que muitas pessoas encontram junto do farmacêutico um pilar de confiança onde podem esclarecer muitas das suas dúvidas e partilhar preocupações.

É dessa confiança que todo o farmacêutico se deve orgulhar, trabalhando diariamente para a aumentar, elevando assim esta profissão ao patamar desejado dentro da nossa sociedade.

2.4. AMEAÇAS

2.4.1. MEDICAMENTOS ESGOTADOS

Como já é de conhecimento público, vários são os medicamentos que se encontram esgotados e esta tem sido uma das maiores preocupações das farmácias atualmente.

Diariamente, as farmácias são confrontadas com várias reservas que ficam feitas devido à falta de medicação, o que implica um atendimento aos utentes mais sensível e cuidado, em que é necessário explicar que não é possível a dispensa de medicamentos devido a ruturas abruptas de *stock*.

Este é um problema para o qual se tem de arranjar uma solução rapidamente, pois, não só afeta os utentes que por vezes têm de interromper as suas terapêuticas e marcar consultas com os seus médicos para tentar arranjar alternativas, mas também as farmácias que se veem incapazes de satisfazer as necessidades dos seus utentes.

2.4.2. MERCADO COMPETITIVO

Como é de conhecimento geral, são inúmeros os locais de venda de MNSRM fora das farmácias, sendo que as parafarmácias surgem como uma das principais alternativas para a compra deste tipo de medicamentos.

Durante o estágio descrito neste relatório, foi notório que bastantes vezes as pessoas não compravam certos MNSRM ou de venda livre, como suplementos, com a justificação de que na parafarmácia era possível adquirir o mesmo produto a um preço inferior.

O que muitas vezes as pessoas não se lembram é que, nestes locais, não existe capacidade de um aconselhamento correto ao utente, o que pode levar a problemas na sua saúde devido a interações para as quais não foram alertadas.

É, por isso, crucial, que o farmacêutico alerte o utente para esta situação, não só com o objetivo de fidelizar o utente, mas também, e mais importante ainda, com o objetivo de garantir a maior segurança possível da saúde da pessoa.

2.4.3. ESTADO DE PANDEMIA E COMUNICAÇÃO SOCIAL

Como já referido, o estágio foi marcado pela pandemia da COVID-19, levando à suspensão do mesmo no dia treze de março, vindo a ser retomado já só no dia cinco de maio.

Nos dias anteriores a este ser suspenso, notou-se uma afluência muito grande de pessoas à farmácia levando a filas de espera enormes, apesar da grande capacidade de atendimento da FIF.

Embora se tenha procedido à limitação da venda de número de produtos de proteção e desinfeção por pessoa, essa enorme procura levou ao rápido esgotamento de artigos como: máscaras de proteção, álcool etílico 70% e 96%, álcool gel e soluções assépticas.

De seguida, foram também observadas falhas na entrega por parte dos fornecedores, que também já se ressentiam com esta situação levando, posteriormente, à falta de produtos no stock da farmácia.

Toda esta situação permitiu concluir que é nestas alturas que a sociedade tem de ser a mais bem informada e educada possível, de modo a que não se deixe levar por alarmismos e informações incorretas que possa ver na internet ou através da comunicação social.

É o facto destes meios de partilha de informação não o saberem fazer da forma mais correta, que leva a que as pessoas se dirijam às farmácias, não com a ideia de comprar o suficiente para elas, mas sim com a ideia de açambarcar, não pensando no próximo e no melhor para a sociedade como um todo.

Também, foi durante este período, que várias vezes na comunicação social as farmácias foram “atacadas” devido ao aumento de preços de produtos como máscaras, álcool, entre outros. É fundamental que, antes de se partir para uma acusação infundada à comunidade de farmácias, sejam investigadas as causas e as origens desses aumentos e só depois então se responsabilizar aqueles que realmente têm a responsabilidade neste problema.

3. CASOS PRÁTICOS

3.1 CASO PRÁTICO I

Um senhor dirige-se à farmácia, preocupado, pois diz que se encontra com diarreia desde a noite passada, com dejeções bastante frequentes e ainda algumas náuseas.

Foram feitas várias questões ao senhor, entre elas se possuía sangue nas fezes, se tinha comido alguma coisa que lhe fizesse mal, ou ainda se apresentava febre, ao qual ele me respondeu negativamente a todas as questões.

Inicialmente foram feitas algumas recomendações não farmacológicas como o aumento da ingestão de água ao longo do dia e a não ingestão de produtos lácteos e produtos gordurosos.

De seguida, aconselhou-se a toma do medicamento *Dioralyte*^{®8}, que é constituído por eletrólitos e glucose, de maneira a fazer a reposição eletrolítica, uma vez que a diarreia é caracterizada por esse desequilíbrio. Este medicamento encontra-se na forma de pó em saquetas, o qual deve ser dissolvido em 200mL de água e tomado após cada dejeção.

Ainda foi recomendada a toma de um antidiarreico, o *Imodium Rapid*[®], cloridrato de loperamida, para que houvesse uma diminuição do número de dejeções e do volume de fezes e o aumento da sua consistência. Informou-se o utente que os medicamentos eram orodispersíveis e que inicialmente devia tomar 2 comprimidos de uma vez e de seguida passar a tomar 1 comprimido após cada dejeção. Alertou-se para a dose máxima de 8 comprimidos por dia ⁹.

Por último, o utente foi informado, que em caso de agravamento ou não melhoria da situação nas próximas 48 horas, se deveria dirigir ao médico para analisar a situação.

3.2 CASO PRÁTICO 2

Uma senhora vai à farmácia e diz que necessita de algo para os piolhos, uma vez que a sua filha ficou infestada na escola.

Por conseguinte, foi-lhe aconselhado o *spray* de tratamento da *Paranix*[®], o qual deve ser colocado no cabelo seco antes do banho e após passar um pente para piolhos. Seguidamente, deve-se massajar todas as áreas da cabeça para garantir que todo o cabelo é envolvido e deixar atuar durante 10 minutos, durante os quais vai ocorrer a asfixia e morte dos piolhos.

De seguida deve-se lavar o cabelo com um champô oleoso e água morna e por último passar novamente um pente para a remoção de possíveis piolhos que poderão ter permanecido após a primeira passagem ¹⁰.

Se necessário, todo este processo poderá ser repetido uma semana após este tratamento.

4. CONCLUSÃO

Com a conclusão deste estágio houve, sem dúvida alguma, um aumento de capacidades não só a nível profissional, mas também a nível pessoal. Foi claramente um período de aprendizagem contínuo, em que todos os conhecimentos adquiridos ao longo dos 5 anos do curso de MICF puderam ser aplicados e dessa forma melhorados, permitindo a formação de um futuro profissional de saúde que trabalhará sempre ao máximo com o objetivo do uso racional do medicamento e do bem-estar do utente.

Desde o primeiro até ao último dia de estágio, foi visível um claro sentimento de integração total por parte de toda a equipa da FIF, à qual fica uma palavra de agradecimento enorme por todos os conhecimentos partilhados, particularmente à Dra. Isabel, ao Dr. António, à Dra. Nélia, ao Dr. João, à Dra. Raquel, à Dra. Susana, à Dra. Inês e à Zaida. Foi com o auxílio de todos que, a cada dia, foi possível aumentar a confiança em todos os serviços prestados e, dessa forma, melhorar a qualidade dos mesmos.

O estágio aqui relatado serviu ainda para demonstrar, mais uma vez, que a função do farmacêutico não se limita simplesmente ao ato de aviar receitas, constituindo fundamentalmente um pilar sólido e de confiança para todos aqueles que procuram as nossas farmácias.

5. BIBLIOGRAFIA

1. FACULDADE DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA – Normas Orientadoras do Estágio Curricular. (2019).
2. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – Farmácia Comunitária [Acedido a 17 de março de 2020]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areasprofissionais/farmacia-comunitaria/>
3. Código deontológico da ordem [Acedido a 17 de março de 2020]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/a-ordem-dos-farmaceuticos/regulamentos/>
4. SOCIÉTÉ GÉNÉRALE DE SURVEILLANCE – ISO 9001 – Certificação, Sistemas de Gestão da Qualidade [Acedido a 18 de março de 2020]. Disponível em <https://www.sgs.pt/-/media/local/portugal/documents/brochures/sgs-iso-9001-quality-management-systems-a4-pt-13-v1.pdf>
5. SANTOS H.J., CUNHA I.N., COELHO P.V., CRUZ P., BOTELHO R., FARIA G., GOMES C.M.A - Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária (BPF) [Acedido a 18 de março de 2020]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/servicos/qualidade/referenciais-da-qualidade/farmacia-comunitaria/>
6. EXCLUSIVAS IGLESIAS – Robô de Farmácia CUBE [Acedido a 19 de agosto de 2019]. Disponível em: <https://farmacia.exclusivasiglesias.com/pt/robo-de-farmacia-ref-cube>
7. VALORMED – Quem Somos [Acedido a 21 de agosto de 2019]. Disponível em: <http://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos>
8. INFARMED, I.P. – Resumo das Características do Medicamento *Dioralyte*®, pó para solução oral [Acedido a 24 de março de 2020]. Disponível em: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=2677&tipo_doc=rcm
9. INFARMED, I.P. – Resumo das Características do Medicamento *Imodium Rapid*®, comprimido orodispersível [Acedido a 24 de março de 2020]. Disponível em: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=4444&tipo_doc=rcm
10. Spray de tratamento da *Paranix*® [Acedido a 24 de março de 2020]. Disponível em: <https://www.paranix.eu/pt/tratamento-piolhos/paranix-spray-tratamento>

Verificação

Ensaio efectuado	Especificação	Resultado		Rubrica do Operador
		Conforme	Não Conforme	
1 CRACTERISTICAS ORGANOLÉPTICAS				
1.1 Cor (verificar conformidade com a especificação)	Amarela	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
1.2 Odor (verificar conformidade com a especificação)	Leve odor a enxofre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
1.3 Aspecto (verificar conformidade com a especificação)	Homogéneo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
2 CONFORME COM A DEFINIÇÃO DA MONOGRAFIA DA FARMAC. PORT.				
3 QUANTIDADE				
Tarar previamente o recipiente de dispensa e, em seguida, pesar com o respectivo conteúdo	100 g (± 5%)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Supervisor:		Aprovado <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Rejeitado Data: 14/05/2020

Embalagem

Embalar a pomada em recipiente opaco (FP IX)

Capacidade do Recipiente: 100 g

Material de Embalagem	Data de Aquisição ou nº da Factura	Origem
Caixa plástica	8204201825	Plural

Operador:

Nome, morada e telefone do doente

Nome do médico prescritor

ANOTAÇÕES

Rubrica da DT:


Data 14/ 05 /2020

Cálculo do preço de venda									
Matérias-primas:									
Matérias-primas	Embalagem existente em armazém		Preço de aquisição de uma dada quantidade unitária (s/ IVA)		Quantidade a usar	Factor multiplicativo	Preço da matéria-prima utilizada na preparação		
	Quantidade adquirida	Preço de aquisição (s/ IVA)	Quantidade unitária	Preço					
Enxofre	250	6.58		0.03	X 7	X 2.2	=	0.46	
Vaselina	900	4.84		0.005	X 93	X 1.9	=	0.88	
					X	X	=		
					X	X	=		
					X	X	=		
					X	X	=		
Subtotal A							€ 1.34		
HONORÁRIOS DE MANIPULAÇÃO:									
	Forma Farmacêutica	Quantidade	F (€)	Factor Multiplicativo	Valor				
Valor referente à quantidade base	pomada	100 g	5,05	X 3	=	15.15			
Valor adicional				X	X	=			
Subtotal B							€ 15.15		
MATERIAL DE EMBALAGEM:									
Materiais de embalagem		Preço de aquisição (S/ IVA)		Quantidade	Factor Multiplicativo	Valor			
Caixa de plástico		0,39		1	X 1,2	=	0,47		
					X	=			
					X	=			
Subtotal C							0,47		
PREÇO DE VENDA AO PÚBLICO DO MEDICAMENTO MANIPULADO:					(A +B +C) x 1.3		22.05		
					IVA		1.32		
					D		23.37		
OUTROS CUSTOS INCORPORADOS:									
Rótulo (s)		Preço de Aquisição (C/ IVA)	Quantidade	Valor	Subtotais				
Dispositivos Auxiliares									
Subtotal E									
PREÇO FINAL D + E							€23.37		
Operador:					Supervisor:				
Rubrica da DT:					Data 14 / 05 /2020				

PRAZO DE UTILIZAÇÃO E CONDIÇÕES DE CONSERVAÇÃO:	
Condições de conservação: A pomada é estável, quando conservado à temperatura ambiente em recipiente opaco bem fechado.	Operador:
Prazo de Utilização: 90 dias	Operador:

Rotulagem

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


 FARMÁCIA ISABEL FOLHAS Direcção Técnica: Isabel Maria Fresco Costa Folhas R. Carolina Michäellis, 20 D - F - 3030-324 COIMBRA Telef. 239404543 Fax 239780829		Médico Prescritor: _____ Identificação do doente: _____
DENOMINAÇÃO DO MEDICAMENTO Pomada de enxofre a 7%		
100 g de pomada contém 7 g de Enxofre precipitado	Data de Preparação: 14/05/2020	
Quantidade dispensada: 100 g	Posologia:	
Medicamento	Prazo de utilização: 90 dias Conservar à temperatura ambiente em embalagem bem fechada Manter fora do alcance das crianças Nº Lote: 013/20	
Preço: € 23.37	Operador: _____	
	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; color: white; background-color: red;"> Uso externo </div>	

Unidade	kg	hg	dcg	g	dg	cg
FACTOR	1,3	1,6	1,9	2,2	2,5	2,8

Formas Farmacêuticas Semi-sólidas	Pomadas propriamente ditas, geles, pomadas obtidas por incorporação de substâncias activas em sistemas pré-preparados industrialmente.	Até 100 g - F x 3	Cada g adicional - F x 0,01
	Pastas	Até 100 g - F x 4,5	Cada g adicional - F x 0,01
	Crems	Até 100 g - F x 9	Cada g adicional - F x 0,015
Formas Farmacêuticas Líquidas não estéreis	Soluções, formas líquidas obtidas por incorporação de substâncias activas em sistemas pré-preparados industrialmente.	Até 100 g / 100 ml - F x 3	Cada g / ml adicional - F x 0,005
	Xaropes	Até 100 g / 100 ml - F x 9	Cada g / ml adicional - F x 0,005
	Suspensões	Até 100 g / 100 ml - F x 4,5	Cada g / ml adicional - F x 0,007
	Emulsões	Até 100 g / 100 ml - F x 9	Cada g / ml adicional - F x 0,013
Formas Farmacêuticas Sólidas	Papéis medicamentosos	Até 10 unid. - F x 6	Cada papel adicional - F x 0,1
	Cápsulas	Até 10 unid. - F x 4,5	Cada papel adicional - F x 0,01
	Pós compostos	Até 100 g - F x 3	Cada g adicional - F x 0,003
	Granulados	Até 100 g - F x 4,5	Cada g adicional - F x 0,013
	Comprimidos	Até 10 cp. - F x 6	Cada cp. adicional - F x 0,1
	Supositórios e óvulos	Até 10 unid. - F x 6	Cada sup. / óv. adicional - F x 0,01
Formas farmacêuticas Líquidas estéreis	Soluções estéreis	Até 100 g / 100 ml - F x 4,5	Cada g / ml adicional - F x 0,005
	Soluções injectáveis	Até 10 amp. - F x 6	Cada amp. adicional - F x 0,1
	Suspensões injectáveis	Até 10 amp. - F x 8,5	Cada amp. adicional - F x 0,14

Rubrica da DT:

Data 14 / 05 / 2020

 FARMÁCIA ISABEL FOLHAS Direcção Técnica: Isabel Maria Fresco Costa Folhas R. Carolina Michâellis, 20 D - F - 3030-324 COIMBRA Telef. 239404543 Fax 239780829	Médico Prescritor _____ Identificação do doente _____ DENOMINAÇÃO DO MEDICAMENTO Pomada de enxofre a 7% Data de Preparação: 14/05/2020 Posologia: Prazo de utilização: 90 dias Conservar à temperatura ambiente em embalagem bem fechada Manter fora do alcance das crianças Nº Lote: 013/20 Operador: _____
100 g de pomada contém 7 g de Enxofre precipitado	
Quantidade dispensada: 100 g	
Medicamento Uso externo	
Preço: € 23.37	

ANEXO II – IDEIA INOVADORA DO PLANO DE ESTÁGIO



Nome: Renato André Saraiva Santos

Tema: Ideia inovadora do plano de estágio na Farmácia Isabel Folhas

Projeto: Melhorias ao programa Sifarma 2000

Enquanto estagiário da Farmácia Isabel Folhas deparei-me com algumas dificuldades associadas ao programa Sifarma 2000 e apercebi-me que algumas melhorias poderiam ser feitas.

A primeira sugestão baseia-se no facto de haver uma dificuldade por parte dos utilizadores deste programa, principalmente iniciantes, como os estagiários, na identificação de medicamentos com e sem comparticipação.

Dito isto, a minha sugestão seria criar um espaço junto aos campos do PVP, IVA etc., que aparece para cada produto, em que se colocava uma letra para indicar que certo produto estaria ou não sujeito à comparticipação pelo SNS.

Foi, devido ao surgimento do sentimento de incapacidade em esclarecer os vários utentes que questionam se certos medicamentos eram comparticipados, que me lembrei de sugerir esta alternativa que, a meu ver, trará benefícios não só no ponto de vista do farmacêutico, mas também do utente, uma vez que torna o atendimento muito mais célere.

A segunda sugestão surge de outra dificuldade pelo qual me confrontei e que conclui que afetava todos os colaboradores da farmácia. Tal dificuldade é devida a não haver informação no Sifarma 2000 que permita ao farmacêutico saber quais as características de cada medicamento, isto é, qual a sua cor, forma, tamanho, e possibilidades de corte. Se também fosse adicionada essa informação a cada medicamento, era-nos possível ajudar os utentes a descobrir a sua medicação habitual, pois, por vezes, estes só a conhecem pelas características dos comprimidos.

ANEXO III – CARTA ENVIADA ÀS FARMÁCIAS PELO DIRETOR GERAL DA VALORMED®



Algés, março de 2020

Ex.mo(a) Senhor(a) Diretor(a) Técnico(a).

Em 1999 demos início a um projeto de preservação ambiental e de proteção da saúde pública, o qual nos permitiu recolher mais de 14 mil toneladas de resíduos de embalagens e de medicamentos de origem doméstica.

Ao longo destes 20 anos, foi determinante para o sucesso do sistema VALORMED o papel desempenhado pelas Farmácias Comunitárias aderentes, nomeadamente, na sensibilização e na educação dos utentes.

Existe a necessidade, contudo, de dar continuidade a este trabalho, até porque, em 2019, apenas cerca de 16% de resíduos de embalagens e de medicamentos foram recolhidos em relação ao número declarado de unidades colocadas pelas empresas farmacêuticas no mercado nacional.

Para reforçarmos a adesão dos portugueses a esta fileira de resíduos, suscitamos o lançamento de uma nova campanha de publicidade, juntando nesta caixa, para o efeito, alguns materiais promocionais:

- Folhetos de sensibilização e cartões check-up para distribuição.
- Pendurante e autocolante para afixar e assinalar a farmácia como ponto de recolha.

Esperando que esta nova imagem seja do seu agrado, solicitamos que envolva ativamente os colaboradores da farmácia na sua divulgação, nomeadamente, no momento da venda dos produtos, distribuindo os materiais e informando os utentes que devem devolver os resíduos de embalagens e de medicamentos para serem tratados de forma adequada.

Mas aguarde, porque esta ação não termina por aqui: ao longo das próximas semanas vai continuar a receber informações adicionais sobre esta nova campanha.

Acima de tudo, queremos continuar a contar consigo.

Com os melhores cumprimentos.

Luis Figueiredo
Director Geral da Valormed

PARTE II

MONOGRAFIA

“A INFLUÊNCIA DO ALELO ÉPSILON 4 DO GENE DA APOLIPOPROTEÍNA
E NA PREDISPOSIÇÃO PARA O DESENVOLVIMENTO DA DOENÇA DE
ALZHEIMER”

LISTA DE ABREVIATURAS

a.a. - Aminoácido

AICD - Domínio intracelular amiloide

AINEs - Anti-inflamatórios não esteróides

ApoE3 - Apolipoproteína E3

ApoE4 - Apolipoproteína E4

APP - Proteína precursora amiloide

A β - Beta-Amiloide

DA - Doença de Alzheimer

ERK (*extracellular signal-regulated kinase*) - Quinase reguladora de sinal extracelular

HDL (*High-Density Lipoproteins*) - Lipoproteínas de alta densidade

LCR - Líquido cefalorraquidiano

LDL (*Low-Density Lipoprotein*) - Lipoproteínas de baixa densidade

LRPI (*Low density lipoprotein receptor-related protein 1*) - Proteína I relacionada com o recetor de lipoproteínas de baixa densidade

MAP (*Microtubule associated protein*) - Proteína associada aos microtúbulos

MCI (*Mild Cognitive Impairment*) - Défice cognitivo ligeiro

NFT - Tranças neurofibrilares

PP-2A (*Protein phosphatase 2A*) - Proteína fosfatase 2A

PP2A_c - Subunidade catalítica da PP-2A

PSENI - Presenilina 1

PSEN2 - Presenilina 2

p-tau - Proteína tau fosforilada

SNC - Sistema nervoso central

VLDL (*Very Low-Density Lipoproteins*) - Lipoproteínas de muito baixa densidade

RESUMO

Desde 1900, tem-se verificado um aumento de mais do dobro da esperança média de vida da população mundial. No entanto, a este aumento, está também associado o acréscimo da prevalência de demências, como é o caso da Doença de Alzheimer (DA) que, segundo a OMS e os dados de 2016, são classificadas como a quinta maior causa de morte do mundo.

Atualmente, a DA é uma das doenças mais prevalentes no mundo e uma das maiores preocupações a nível médico, económico e social dos pacientes e dos seus cuidadores. Como tal, torna-se fundamental a investigação em torno deste tema, de modo a que seja possível transmitir, ao doente e cuidador, mais informação para a manutenção de um melhor estilo de vida, e também encontrar um tratamento que permita modificar o curso da doença.

Em relação às formas da DA, os indivíduos podem apresentar a forma familiar ou a forma esporádica, sendo esta última a forma mais prevalente da doença, existindo vários fatores que poderão estar associados à sua ocorrência.

Entre os vários fatores de risco associados, o alelo épsilon 4 da apolipoproteína E é o fator de risco de índole genético mais comum nos pacientes com a forma esporádica da DA, sendo expresso em mais de metade dos doentes com esta patologia. Para além das evidências de que possa estar relacionado com a patologia amiloide, este fator de risco está também associado a outros mecanismos fisiopatológicos da DA, nomeadamente à patologia da tau e à neuroinflamação. Desta forma, a comunidade científica tem vindo a demonstrar cada vez mais interesse em alcançar um conhecimento mais aprofundado de todos os mecanismos subjacentes a este alvo terapêutico, permitindo assim uma melhoria significativa no diagnóstico e no controlo da progressão da DA.

PALAVRAS-CHAVE: Doença de Alzheimer, demência, fator genético, apoE4.

ABSTRACT

Since 1900, the global average life expectancy more than doubled, followed by an uprising of mental disorders, such as Alzheimer's Disease (AD).

According to the WHO, based on 2016 data, such mental conditions represent the 5th leading cause of death worldwide.

Due to the widespread of AD incidence across the globe and all the inherent medical, economic and social challenges, AD has been one of the major concerns to both patients and caregivers.

Scientific research has been of paramount importance to increase the knowledgebase around AD, allowing more effective and personalized treatments which can change the course of the disease, thus improving the patients' quality of life.

AD can be classified as familiar or sporadic, the latter being the most prevalent type of the disease.

Amongst all the scientifically identified risk factors, the epsilon 4 allele of the apolipoprotein E emerges as the most common genetic susceptibility factor in AD patients, with the APOE gene expression being observed in more than 50% of the patients with AD. In addition to the evidence showing that this risk factor might be related to amyloid pathology, there have been several other physiopathological mechanisms of AD linked to the expression of the aforementioned allele, namely the tau pathology and neuroinflammation. The scientific community keeps pursuing a deeper understanding of all the underlying mechanisms of this therapeutic target, aiming for a more accurate diagnosis and a more efficient prevention therapeutic response in AD patients.

KEYWORDS: Alzheimer's disease, dementia, genetic factor, apoE4.

I. INTRODUÇÃO

Desde 1900, tem-se verificado um aumento de mais do dobro da esperança média de vida da população mundial. No entanto, a este aumento, está também associado o acréscimo da prevalência de demências, como é o caso da DA¹.

A DA é uma doença neurodegenerativa progressiva e irreversível associada a declínio cognitivo, sendo a forma mais comum de demência em idosos, isto é, em pessoas com idade superior a 65 anos².

Tem sido até aos dias de hoje uma das doenças que suscitam maior interesse e questões aos investigadores espalhados por todo o mundo, não só pela sua complexidade, mas também devido ao facto de, segundo os dados de 2016 da Organização Mundial de Saúde, ser considerada, junto com outras formas de demência, a quinta maior causa de morte no mundo³. Por estes motivos, em dezembro de 2013, o grupo dos oito países mais industrializados do planeta, mais conhecido por G8, decidiu classificar as várias formas de demência, incluindo a DA, como prioridade global com o objetivo de encontrar uma cura ou uma terapia moduladora da doença até ao ano de 2025⁴. No entanto, atualmente ainda não existe uma terapia capaz de prevenir e/ou modificar o curso da doença.

Sendo uma forma de demência que pode, ou não, estar associada a outras patologias, a DA acarreta várias complicações consigo, não só para o doente afetado, mas também para os familiares de cada doente e para a sociedade.

Apesar do forte investimento e pressão dos países numa tentativa de descobrir uma forma efetiva de combate à DA, e embora já se tenha avançado bastante nesta descoberta, ainda muito desta doença está por revelar e a previsão de uma data para a cura ainda não consegue ser feita.

Até lá, os vários investigadores a trabalhar nesta patologia, tentam descobrir formas de melhorar o estilo de vida e o bem-estar das pessoas com DA, fazendo para isso um diagnóstico cada vez mais precoce desta doença de forma a minimizar a magnitude dos danos causados por esta.

Esta monografia tem por objetivo incidir nos vários fatores de risco associados à DA, mas mais particularmente, no fator relacionado com o alelo épsilon 4 da apolipoproteína E e terapias associadas.

2. DOENÇA DE ALZHEIMER

2.1 CONTEXTUALIZAÇÃO HISTÓRICA

Alois Alzheimer, neurologista e psiquiatra alemão, conheceu, em 1901, uma mulher de 51 anos, Auguste Deter, que segundo o marido, apresentava delírios, esquecimentos, desorientação, ansiedade, desconfiança e indisciplina⁵. Durante os anos seguintes o neuropatologista gravou e tomou nota das várias questões e testes que foi fazendo à doente em causa, até que, após a morte desta aos 55 anos, em 1906, e após a reunião de todos os dados que foi obtendo, inclusive a deteção da presença de placas senis e tranças neurofibrilares no cérebro, concluiu que esta apresentava uma “doença peculiar do córtex cerebral”, denominando-se mais tarde esta doença por DA, em homenagem ao médico que tantos avanços realizou na descoberta e identificação desta doença⁵.

Os conceitos de demência e da DA têm vindo a ser alterados ao longo dos anos devido às várias descobertas que têm sido feitas e ao aumento do conhecimento em relação a estes temas.

2.2 EPIDEMIOLOGIA

A epidemiologia da DA é um parâmetro muito difícil de avaliar, uma vez que estão associadas a esta doença várias variáveis, como é o caso de comorbilidades como a doença cerebrovascular⁶. No entanto, a partir dos vários avanços feitos em relação aos métodos de diagnóstico da doença, tem sido possível calcular a sua incidência e prevalência⁶.

Estando a incidência de uma doença associada aos novos casos, numa determinada população, num determinado intervalo de tempo, na DA esta encontra-se entre os 1-3%. Já a prevalência, que é relativa ao número de casos de uma doença numa população num determinado momento temporal, na DA encontra-se entre os 10-30% numa população de idade superior aos 65 anos⁶.

De referir ainda que, como será exposto mais à frente, os doentes podem apresentar a forma familiar da DA (correspondendo apenas a cerca de 5% do total de casos de DA no mundo) ou a forma esporádica da DA (correspondendo a cerca de 95% do total de casos de DA por todo o mundo)⁶.

Para além disto, a DA e a demência não específica apresentam uma maior prevalência em relação ao sexo feminino do que ao sexo masculino⁶.

2.3 FASES DA DOENÇA E RESPECTIVA SINTOMATOLOGIA

A manifestação e evolução da DA pode variar de pessoa para pessoa, no entanto vários são os sintomas comuns aos doentes com esta patologia.

Na fase pré-clínica, os doentes com DA são assintomáticos sendo na fase prodromal que começam a surgir sintomas não específicos que podem ser confundidos com o envelhecimento normal. É na fase prodromal que começa a haver um declínio cognitivo ligeiro (MCI) e certos sintomas, como a perda de memória de curto prazo e a dificuldade em memorizar nova informação, começam a surgir. Este período inicial de duas fases pode durar até cerca de duas décadas^{6,7}.

Com a posterior evolução da doença os sintomas iniciais vão evoluindo e outros sintomas vão surgindo levando a doença a passar por um estado moderado e posteriormente por um estado severo. À medida que a condição progride, o défice cognitivo torna-se mais profundo e disseminado, interferindo nas atividades da vida diária, uma vez que os doentes apresentam dificuldades de raciocínio, de tomada de decisão e alterações visuo - espaciais. Começa a surgir um aumento da dependência do doente para com os seus cuidadores, défice de mobilidade, alucinações, convulsões e alterações comportamentais e de humor, nomeadamente, diminuição de confiança para com as pessoas que o rodeiam⁷.

Como seria expectável, a fase severa da doença é a fase em que há uma maior dependência do doente para com os seus cuidadores, necessitando de auxílio para a realização de tarefas diárias como tomar banho, vestir, comer, e fazer as necessidades básicas. Pode ainda ocorrer perda da fala e incapacidade de reconhecer familiares.

Na fase mais severa geralmente os doentes estão acamados, a necessitar continuamente de cuidados e muito mais suscetíveis a infeções (como é o caso da pneumonia), que muitas das vezes são a causa de morte destes doentes⁸.

2.4 FORMAS DA DOENÇA E FATORES DE RISCO

Como suprarreferido, existem duas formas da DA: a forma esporádica e a forma familiar de início precoce.

A forma esporádica, é a forma mais prevalente da doença e vários são os fatores que poderão estar associados à sua ocorrência, sendo a idade avançada, o historial familiar de DA e a presença do alelo épsilon 4 do gene da apolipoproteína E os principais a ter em conta⁸.

Para além destes três fatores existem ainda fatores de risco modificáveis como é o caso do sedentarismo, fatores de risco cardiovasculares, e tipo de dieta feita ao longo da vida, que têm vindo a demonstrar impacto na incidência desta doença⁸.

Já a forma familiar de início precoce, ocorre em pessoas com idade entre os 40 e os 60 anos em resultado de mutações autossómicas dominantes sendo por isso hereditárias. Esta forma da doença é causada por possíveis mutações em três genes, sendo eles o gene que codifica a proteína precursora amiloide (APP) no cromossoma 21, e ainda os genes que codificam a presenilina 1 (PSEN1) no cromossoma 14 e a presenilina 2 (PSEN2) no cromossoma 1⁹. Devido ao facto de uma dessas mutações ser no cromossoma 21, e sendo a Síndrome de Down caracterizada por uma cópia a mais nesse cromossoma, os doentes que possuem esta Síndrome têm uma maior probabilidade de vir a ter esta forma da DA¹⁰.

2.5 FISIOPATOLOGIA

São vários os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na DA, no entanto, os mais investigados ao longo dos anos estão associados à patologia amiloide, à patologia da tau e ainda à contribuição da ApoE para o desenvolvimento da DA⁶.

Tanto na patologia amiloide como na da tau, há a acumulação de proteínas no cérebro, sendo a patologia amiloide caracterizada por acumulação do peptídeo A β (originando as placas senis) no espaço extracelular neuronal, e a patologia da tau caracterizada por acumulação de proteína tau hiperfosforilada (originando as tranças neurofibrilares – NFT) no espaço intracelular neuronal⁶.

Já a ApoE, é o fator de risco genético mais forte da forma esporádica da DA, uma vez que se acredita que possa ter influência em ambas as patologias referidas acima. Também o polimorfismo na região reguladora da transcrição da ApoE tem sido bastante associado à DA^{6,11}.

Apesar de nesta monografia abordar a patologia amiloide e a patologia da tau, é no fator genético da ApoE que irá incidir mais detalhadamente.

2.6 PATOLOGIA AMILOIDE

Como suprarreferido, esta patologia é caracterizada pela acumulação de peptídeo A β , peptídeo esse que é originado pela clivagem da APP. A APP é uma proteína transmembranar que ao ser clivada inicialmente pela α -secretase ou pela β -secretase (BACE1) e posteriormente

pela γ -secretase vai libertar fragmentos para o citoplasma e para o meio extracelular. A clivagem inicial pela α -secretase (ADAM9, ADAM10 ou ADAM17), leva ao início da via não amiloidogénica e a clivagem pela β -secretase inicia a via amiloidogénica¹² (Figura 1).

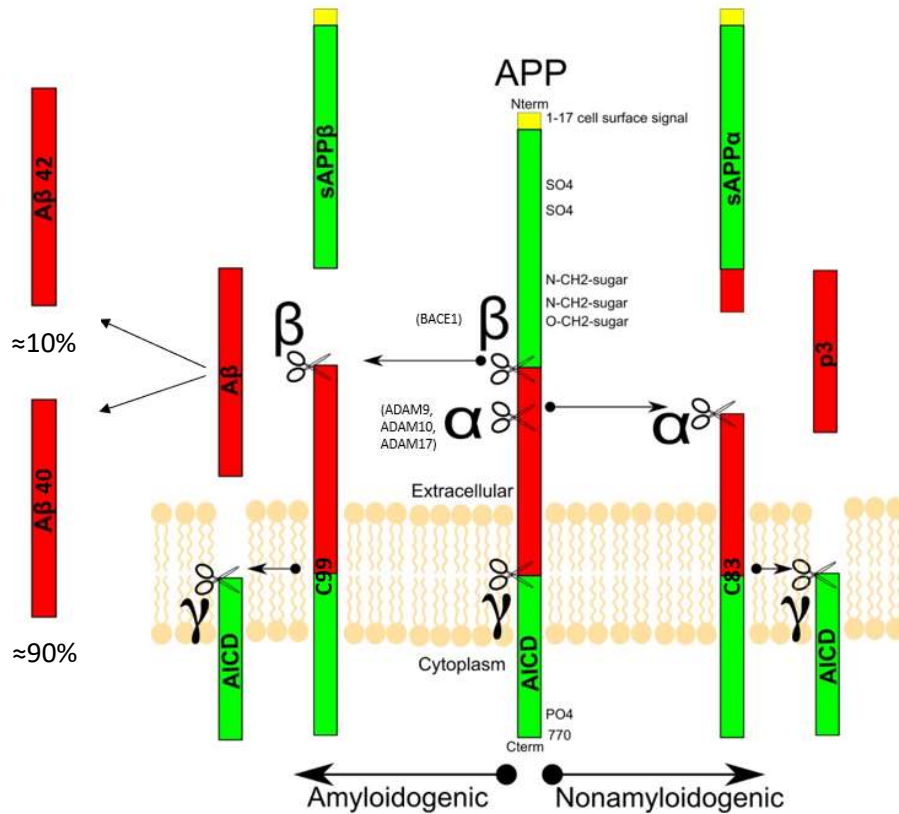


Figura 1 – Vias de clivagem da APP. (Adaptado de Arbor *et al.*, 2016)

Em ambas as vias, após a ação da α -secretase e da β -secretase, ocorre a clivagem do fragmento membranar da APP pela γ -secretase, e subsequentemente, a libertação intracelular de um domínio intracelular amiloide (AICD). Na via da α -secretase ocorre a libertação extracelular de p3; na via da β -secretase há libertação extracelular de peptídeo $A\beta$.^{12,13}

A função do fragmento p3 ainda é desconhecida, no entanto não apresenta os efeitos neurotóxicos apresentados pelo peptídeo $A\beta$, e, por conseguinte, a via não amiloidogénica não é considerada uma via prejudicial ao organismo^{12,13}.

Já na via amiloidogénica, formam-se essencialmente duas isoformas do peptídeo $A\beta$, o $A\beta_{40}$ (numa abundância de aproximadamente 90%) e o $A\beta_{42}$ (numa abundância de aproximadamente 10%), sendo que o peptídeo $A\beta_{42}$, apesar de menos abundante é mais neurotóxico pois tem maior propensão para agregar, levando a uma maior deposição de amiloide^{13,14}. É a partir da agregação do peptídeo $A\beta$ que há a formação das placas senis e

consequente perda de funções cognitivas característica da DA. No entanto, estudos recentes sugerem que os dímeros e oligómeros de peptídeo A β poderão ser os principais causadores da neurotoxicidade característica da DA e que as placas senis de A β agregado poderão servir como sequestradoras destas formas mais elementares. A ser validada tal hipótese, poderá haver mudanças na procura da terapêutica para a DA¹².

Por outro lado, há que ter em atenção que, apesar da acumulação do peptídeo A β ser necessário para o diagnóstico da DA, o facto de existir uma significativa proporção de idosos que morre com evidências de grande deposição de A β mas sem sintomas sugere que o depósito de amiloide por si só não é suficiente para causar DA⁷.

2.7 PATOLOGIA DA TAU

Para além das placas senis, outro marcador histopatológico importante para o diagnóstico da DA é a presença de NFTs, as quais são constituídas por proteína tau hiperfosforilada (p-tau)¹².

A perda neuronal e sináptica é tipicamente paralela à formação dos emaranhados de p-tau e, como tal, acredita-se que as características clínicas e a gravidade da DA estão mais correlacionadas com a patologia da tau do que com a patologia amiloide, uma vez que esta última atinge a fase de plateau no início da fase sintomática da doença⁷.

A tau é uma proteína que se encontra associada aos microtúbulos de neurónios maduros promovendo a síntese dos microtúbulos e a estabilização da rede de microtúbulos neuronal¹⁵. Sendo uma fosfoproteína, é o grau de fosforilação da tau que regula a sua função a nível do citoesqueleto de microtúbulos. Quando ocorre a hiperfosforilação da tau, há uma perda de função da sua atividade biológica, deixando esta fosfoproteína de estar ligada aos microtúbulos que se desorganizam. Por outro lado, a tau hiperfosforilada forma agregados intracelulares que sequestram a tau normal. Estes eventos contribuem para danos nos neurónios em parte devido a falhas no transporte axonal que depende do citoesqueleto de microtúbulos¹⁵.

É o facto de não haver ligação à tubulina pela p-tau, de haver uma captação da tau normal e de ocorrer uma acumulação de p-tau no espaço intracelular neuronal que pode explicar a neurotoxicidade e neurodegeneração que se observam no cérebro dos doentes de Alzheimer¹⁵.

O que permanece ainda bastante desconhecido e que tem sido alvo de vários estudos é a causa possível para a ocorrência desta hiperfosforilação da tau. Até ao momento pensa-se

que este fenómeno poderá estar relacionado com a atividade da proteína fosfatase 2A (PP-2A), proteína essa que regula a fosforilação em várias zonas da proteína tau. Em vários estudos sobre a DA já realizados, verifica-se uma perda de funcionamento da PP-2A, seja por níveis reduzidos das subunidades catalíticas ou reguladoras da PP-2A, ou por fosforilação da própria PP-2A, entre outros factores^{15,16}.

Apesar dos vários estudos já realizados ainda muito desta patologia está por descobrir, mas acredita-se que possa vir a ser um alvo terapêutico bastante eficaz.

2.8 FATOR GENÉTICO DA APOE: ALELO ÉPSILON 4

A ApoE é uma lipoproteína de 35-kDa, constituída por 299 aminoácidos e codificada pelo cromossoma 19. Tem como função o transporte de triglicérideos e colesterol em múltiplos tecidos do corpo, incluindo o cérebro, tendo por isso um papel fundamental no que à manutenção da mielina e membranas neuronais diz respeito^{6,17,18}. No sistema nervoso central (SNC) é sintetizada por astrócitos, microglia e pelos próprios neurónios^{17,19}.

Um dos primeiros relatos da ligação da ApoE à DA, foi em relação à imunorreatividade da ApoE em depósitos de peptídeo A β e nas NFT's, que, como já foi referido, são marcadores histopatológicos característicos da DA^{6,19}.

Ainda em termos da estrutura, e como é possível ver na Figura 2, a ApoE é constituída por um domínio N-terminal (resíduos 1-167) e por um domínio C-terminal (resíduos 206-299). O domínio N-terminal é rico em resíduos de arginina e lisina formando a região de ligação ao recetor LDL (resíduos 135-150). Já o domínio C-terminal, contém uma região hidrofóbica que permite estabelecer interações com lípidos (resíduos 244-272)^{17,18}.

Em relação ao polimorfismo da ApoE, existem três alelos diferentes na população: ϵ 2, ϵ 3 e ϵ 4, com uma predominância de 6,8, 78,3 e 14,5%, respetivamente. Estes diferem entre si apenas por um ou dois aminoácidos nas posições 112 e 158 do domínio N-terminal da ApoE, sendo o alelo ϵ 2 constituído por dois aminoácidos de citosina, tanto na posição 112 como na 158, o alelo ϵ 3 constituído por um aminoácido de citosina na posição 112 e um aminoácido de arginina na posição 158 e o alelo ϵ 4 constituído por dois aminoácidos de arginina, tanto na posição 112 como na posição 158^{6,17,18} (Figura 2).

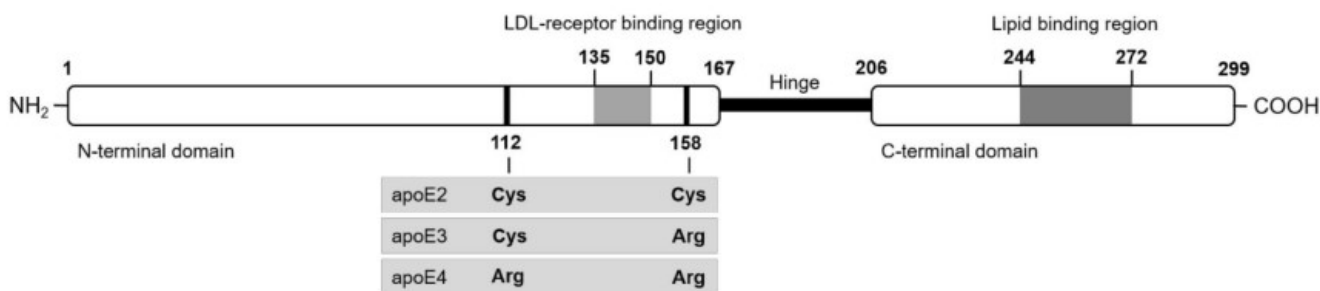


Figura 2 – Estrutura da apolipoproteína E. (Muñoz SS et al., 2019)

Até ao momento, é sabido que o alelo $\epsilon 4$ é o maior fator de risco genético da forma esporádica da DA pois foi descoberto que 40 a 80% das pessoas com DA apresentam pelo menos um alelo épsilon 4 e que há um aumento do risco, de 3 a 15 vezes, respetivamente nos indivíduos heterozigóticos e homozigóticos, de contrair a DA. Em relação ao alelo $\epsilon 3$ este parece apresentar uma posição neutra no que à ocorrência da DA diz respeito, apesar de já haver estudos que sugerem que este possa proteger a proteína tau da hiperfosforilação suprarreferida^{24,37}. Por último, o alelo $\epsilon 2$, que demonstra, nos estudos realizados até agora, ter algumas características protetoras da doença. No entanto, os mecanismos que explicam essa influência do genoma na DA ainda permanecem bastante desconhecidos¹⁷.

Apesar disto, já foi possível verificar que a presença de cisteína na posição 158 no alelo $\epsilon 2$ resulta numa hipocolesterolemia causada por baixos níveis de lipoproteínas de baixa densidade (*Low-Density Lipoproteins* – LDL). Por oposição, a substituição da cisteína da posição 112 pela arginina, como acontece no alelo $\epsilon 4$, resulta num aumento dos níveis de colesterol e LDL no plasma, levando assim o portador a ter um maior risco de vir a contrair distúrbios neurodegenerativos, como é o caso da DA e doenças cardiovasculares, que sendo um fator de risco para a DA, aumentará também a predisposição a esta doença^{18,20}.

Este é um facto que indica que, das duas argininas presentes no alelo $\epsilon 4$, a arginina presente na posição 112 é sem dúvida a causa dos aumentos de colesterol e LDL relatados, uma vez que no alelo $\epsilon 3$ também temos a presença da arginina na posição 158, mas este apresenta um efeito neutro (ou mesmo protetor de acordo com evidências recentes relativas à patologia da Tau) no risco de desenvolver DA.

Estas diferenças de capacidade de ligação lipídica por parte da ApoE4 poderão dever-se ao facto de nesta isoforma, a arginina-61 interagir com a arginina-112, levando a alterações na conformação, resultando numa interação da arginina-61 com a glutamina-255. Esta

interação entre os domínios N- e C- terminal não existem nem no alelo $\epsilon 2$, nem no alelo $\epsilon 3$, devido à menor hidrofobicidade da cisteína-112^{18,21}.

É devido a diferenças na conformação da ApoE4, como a relatada anteriormente, que surgem zonas no alelo $\epsilon 4$ menos protegidas e menos estáveis que nos outros alelos e que há um aumento na ligação de lipoproteínas de muito baixa densidade (*Very Low-Density Lipoproteins* – VLDL) e de LDL à ApoE4, relativamente à ligação da ApoE4 com lipoproteínas de grande densidade (*High-Density Lipoproteins* – HDL)^{18,22,23}.

Devido aos efeitos multifacetados da ApoE que têm sido descobertos ao longo dos anos, o interesse dos investigadores por este tema tem aumentado e atualmente várias são as equipas científicas a trabalhar na investigação dos mecanismos responsáveis pela influência da ApoE na DA²⁴.

3 INFLUÊNCIA DA APOE4 NA DA – PATOLOGIAS AMILOIDE E DA TAU

3.1 NA PATOLOGIA AMILOIDE

A ApoE tem um efeito relevante no metabolismo do peptídeo A β e apesar de todos os alelos da ApoE afetarem não só a produção de peptídeo A β , mas também a sua “clearance” e agregação (formação de placas senis), o alelo $\epsilon 4$ tem vindo a demonstrar uma maior influência no que a estes processos diz respeito^{24,25}.

Em termos de produção de A β , vários são os processos que podem explicar a influência da ApoE4. De facto, na presença de A β tanto o alelo épsilon 3 da ApoE, como o alelo épsilon 4 se ligam a recetores LDL alterando não só a conformação da ApoE como também a sua internalização^{24,26}. Num estudo, feito por Hopkins *et al.*, foi relatado que o aumento de A β pode ser devido à ligação da TMCC2, uma proteína ApoE-ligante, à ApoE4, o que acelera a interação do fragmento C-terminal de 99 resíduos (originado pela clivagem da APP pela β -secretase) com a enzima γ -secretase levando a um posterior aumento do peptídeo A β ^{26,28}.

Recentemente, Huang *et al.*, mencionou através de um dos seus estudos que as várias isoformas da ApoE (ApoE4>ApoE3>ApoE2), controlam a transcrição da APP e consequentemente a produção de peptídeo A β , através da ativação de uma cascata de sinalização mediada pelas proteínas cinases ativadas por mitogénios (MAP cinases). Nesta via desencadeada pela ApoE, ocorre uma sequência de fosforilações, incluindo a fosforilação de cFos (subunidade do fator de transcrição AP-1) que, ao ser fosforilada, faz com que o AP-1 se ligue ao promotor do gene da APP, iniciando assim a transcrição desta do gene que codifica

esta proteína e consequente aumento dos seus níveis, que se irão refletir num aumento da produção de peptídeo A β ²⁷.

Em relação à agregação do peptídeo A β , vários estudos têm também evidenciado influência da ApoE4 neste processo. Foi descoberto que portadores do alelo ϵ 4 apresentam uma maior probabilidade de formar co-agregados com o peptídeo A β ^{26,29}, em comparação com portadores do alelo épsilon 3^{26,30,31}. Para além disso, também foi observado que a ApoE aumenta a concentração e a estabilidade de oligómeros de A β numa relação isoforma-dependente, isto é, ApoE4>ApoE3>ApoE2^{26,32,33}. Ainda no contexto da agregação de A β , foi também já observado que a ApoE4 conduz a uma maior tendência para se auto agregar ao interagir com filamentos proteicos aleatórios, levando a que haja uma maior captação de A β e posterior agregação do mesmo^{26,34}.

Finalmente, em relação à “clearance” de A β , esta também pode ser afetada pela formação de complexos ApoE/A β , assim como pela competição pelo mesmo mecanismo de “clearance” no cérebro. É o caso do mecanismo mediado por LRPI (*Low density lipoprotein receptor-related protein 1*) que ocorre nos astrócitos, em que tanto a ApoE, como o peptídeo A β competem pela ligação ao LRPI. O LRPI funciona como um co-recetor que facilita o uptake e degradação de A β nas células da glia. A ApoE competindo para o mesmo recetor inibe a ligação LRPI/A β aumentando a concentração de A β no cérebro^{24,35}. É importante referir que a ApoE4 é a isoforma que apresenta maior afinidade para o LRPI e que, por isso, terá maior influência nesta competição com o peptídeo A β , afetando o processo de “clearance”, e levando a uma maior acumulação deste no espaço neuronal.

Como podemos concluir pelos vários estudos referenciados acima, vários são os mecanismos pelos quais a ApoE4 pode realmente influenciar a patologia amiloide e é por aí que a investigação para a terapêutica para a DA tem sido também dirigida, tendo já dado bastante alternativas possíveis, que irão ser abordadas mais à frente.

3.2 NA PATOLOGIA DA TAU

Como suprarreferido, acredita-se que a hiperfosforilação da proteína tau pode ser uma das principais razões para a neurodegeneração característica da DA.

Uma das formas pelas quais a ApoE4 poderá influenciar essa hiperfosforilação é atuando na já mencionada PP-2A, através de dois mecanismos: 1) repressão transcricional, em que a ApoE, mais especificamente o alelo ϵ 4, reprime a transcrição do gene que dá origem à PP-2A, denominado PPP2R5E, levando a uma diminuição dos níveis de PP-2A e, por

consequente, a um aumento da p-tau; 2) desmetilação pós-tradução, uma vez que na presença da ApoE4, se verifica uma desmetilação da subunidade catalítica da PP-2A (PP2A_C), com posterior perda da atividade intrínseca desta proteína³⁶.

A influência da ApoE4 na patologia da tau pode ainda resultar do facto dos fragmentos da sua proteólise poderem contribuir para a hiperfosforilação da tau. Após a proteólise da ApoE que ocorre nos neurónios são originados fragmentos (em mais quantidade da ApoE4 do que da ApoE3) que poderão ativar processos que causem a hiperfosforilação da tau e a formação de inclusões filamentosas intraneuronais (contendo p-tau) no hipocampo³⁹.

4 INFLUÊNCIA DA APOE4 NA DA – OUTROS MECANISMOS

4.1 NEUROINFLAMAÇÃO

Durante a neurodegeneração, ocorre a ativação do sistema imunológico inato porque os recetores de reconhecimento de padrões (PRRs) responsáveis pela regulação deste sistema, que no cérebro é mediado essencialmente pelas microglias, podem ser ativados por proteínas e peptídeos como a A β e a p-tau^{37,41}. Assim, a ApoE4 ao contribuir para o aumento das concentrações destas duas proteínas e, conseqüentemente, de citocinas pro-inflamatórias (TNF- α , IL-6, e IL-1 β , entre outras) produzidas pela microglia pode levar a um aumento da neuroinflamação e da degeneração neuronal, agravando assim o grau de severidade da DA^{37,41,42}.

No entanto, devido ao desconhecimento que ainda existe relativamente ao efeito da ApoE4 no processo de neuroinflamação e da forma como esta pode ser minimizada, ainda muito poucos são os estudos relacionados com os efeitos de fármacos anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) na DA³⁷. Apesar de um estudo de meta-análise de dados revelar que não existe benefício destes fármacos no desenvolvimento da doença, dados epidemiológicos recentes sugerem que portadores da ApoE4 respondem melhor ao tratamento com AINEs³⁷.

5 ABORDAGENS TERAPÊUTICAS DIRECIONADAS À APOE4

Várias têm sido as abordagens estudadas com o objetivo de combater os efeitos negativos da ApoE4 na DA. De seguida, serão mencionadas algumas dessas abordagens para se perceber de que forma a ciência está a tentar modular este alvo terapêutico para tratar uma das doenças mais prevalentes no mundo.

Apesar de todos os esforços feitos até ao dia de hoje, nenhuma terapia, tendo como alvo o gene e as propriedades da ApoE, foi estabelecida na prática clínica e, por isso, ainda muito trabalho está por ser feito no que a este tema diz respeito⁴³.

5.1 EDIÇÃO GENÉTICA DA APOE4 PELA TÉCNICA CRISPR/CAS9

CRISPR é um acrónimo para “*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*”, isto é, repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente interespçadas, e são um tipo de sequências de DNA encontradas no genoma de bactérias que foram originadas aquando de ataques virais. São usadas para criar sequências de RNA guia, que permitem identificar o DNA alvo⁴⁴. A técnica CRISPR/Cas9 consiste em duas componentes: a proteína Cas9, uma endonuclease que consegue clivar moléculas de DNA, e um RNA guia, que consegue identificar a sequência de DNA a ser editada⁴⁴.

A DA tem sido mais uma das muitas patologias que são alvo desta técnica, com o objetivo de minimizar os efeitos patológicos da doença. Acredita-se que através da CRISPR/Cas9 possa ser feita a conversão da ApoE4 em ApoE3 ou ApoE2³⁷. Esta técnica pode ser vista como adequada para o gene da ApoE, uma vez que a ApoE4 difere das outras isoformas apenas por 1 (ApoE3) ou 2 (ApoE2) aminoácidos³⁷.

Idealmente, esta técnica poderia ser usada para fazer a conversão da ApoE4 na ApoE3 ou na ApoE2, mas alternativamente à tecnologia CRISPR/Cas9 também poderia ser feito o “*knockout*” do alelo épsilon 4 em indivíduos heterozigóticos ApoE4/ApoE3 ou ApoE4/ApoE2, conferindo proteção, uma vez que já se comprovou que a ApoE4 acarreta consigo efeitos tóxicos para os neurónios humanos³⁷.

Apesar de tudo, ainda muitos estudos estão por realizar em relação aos efeitos desta técnica na ApoE4 e, por isso, até lá, ainda não podem ser tiradas grandes conclusões em relação aos benefícios desta tecnologia na DA.

5.2 IMUNOTERAPIA ANTI – APOE4

Em relação à imunoterapia realça-se o estudo feito por Fan Liao *et al.* em que se procedeu à administração de um anticorpo anti-ApoE humana 4 (HAE-4) que é seletivo, não só para a ApoE4, mas também para a ApoE3, e que se liga preferencialmente a ApoE não lipídada que se encontra em agregados relativamente à ApoE lipídada que se encontra em circulação e que é a forma mais abundante *in vivo*. Para além disto, observou-se que este anticorpo se liga à ApoE presente em placas senis. A administração central ou periférica deste anticorpo levou à redução de depósitos de $A\beta_{40}$ e $A\beta_{42}$ ⁴⁵. Ao contrário dos outros anticorpos, o HAE-4 liga-se à ApoE agregada e depositada nas placas senis, sustentando a hipótese de que a formação da placa amiloide mediada pela ApoE poderá ser uma consequência da agregação da ApoE⁴⁷. Desta forma, não só é possível garantir a diminuição dos níveis de ApoE4, como também se poderá prevenir a agregação e formação da placa amiloide.

Para além destas conclusões, este estudo permitiu ainda demonstrar um maior tempo de semivida da HAE-4, comparando aos restantes HAE deste estudo permitindo uma maior exposição a este anticorpo e daí a uma maior redução das placas de $A\beta$ ⁴⁷. O processo de redução da formação de agregados de peptídeo $A\beta$ em consequência da ligação do anticorpo à ApoE, é dependente da ativação do processo de fagocitose mediado pela microglia⁴⁵.

É, sem dúvida, um estudo que dá grandes esperanças à comunidade científica no que ao combate da DA diz respeito, no entanto ainda vários estudos terão de ser feitos para descobrir todas as vantagens e riscos que poderão estar associados a esta técnica.

5.3 TERAPIA TENDO COMO ALVO A NEUROINFLAMAÇÃO

Como já referido a ApoE4 também poderá levar à neuroinflamação mediada em grande parte pelas células da glia, causando um aumento dos danos neuronais. Por conseguinte, uma possível terapêutica, será atuar no processo de inflamação seja pela redução da expressão génica de citocinas, pela inibição da sua libertação ou ainda impedindo a sua ligação aos recetores respetivos⁴⁶.

Uma molécula possível para este alvo terapêutico poderá ser a minociclina, um antibiótico de largo espectro, que através das suas propriedades anti-inflamatórias, reduz a libertação de citocinas pelos astrócitos, levando a melhorias no défice cognitivo causado pela DA⁴⁶. Outra estratégia, direcionada à função da microglia, envolve manipulações experimentais para promover o encapsulamento microglial das placas amiloides, reduzindo assim a distrofia axonal. Vários estudos mostraram que a imunização passiva pelos anticorpos anti- $A\beta$ ou anti-

ApoE aumentam o recrutamento da microglia em torno das placas amiloides em modelos de murghos com DA, diminuindo assim a prevalência de placas amiloides no espaço neuronal e dessa forma a resposta imunológica à presença das mesmas^{46,47}.

5.4 PEPTÍDEOS MIMÉTICOS DA APOE

Uma outra possibilidade que se encontra também em investigação para compensar os efeitos tóxicos da ApoE4 é a utilização de um peptídeo mimético da ApoE, isto é, um peptídeo que mimetize as características biológicas da ApoE, evitando os efeitos nefastos da ApoE4 nativa⁴³. Como suprarreferido, vários são os processos em que a ApoE, mais concretamente a ApoE4, está envolvida, no que à patogénese da DA diz respeito. O objetivo destes peptídeos seria mimetizar a atividade fisiológica da ApoE, excluindo domínios da proteína envolvidos em vias patológicas passíveis de causar processos que agravem o estado da doença, como é o caso da neuroinflamação e da agregação de peptídeo A β . O tratamento feito com peptídeos miméticos de 12 a 17 aminoácidos. (COG112 e COG1410), que contêm a região de ligação ao recetor da ApoE, mas não a região de ligação aos lípidos ou ao peptídeo A β , reduziu significativamente a neuroinflamação, a hiperfosforilação da tau e os defeitos na neurogénese em murghos adultos com DA^{43,48,49}.

Apesar de tudo, e como em muitas das terapêuticas referidas, ainda muito está para avaliar e estudos sobre os efeitos destes peptídeos nas patologias amiloides ainda são muito escassos.

Dito isto, investigações adicionais têm de ser realizadas para que o combate à DA tendo como alvo terapêutico a ApoE4 consiga apresentar resultados satisfatórios e, dessa forma, aplicar todos os conhecimentos obtidos no combate a esta doença, que tanto atinge a população mundial.

6 CONCLUSÃO

Apesar dos vários esforços feitos até à data, e dos grandes avanços já realizados em relação à DA e à ApoE, mais concretamente à ApoE4, ainda nenhuma terapêutica tendo como alvo o gene da ApoE e as suas propriedades passou os ensaios clínicos com sucesso. Tal facto poderá ser justificado, pela complexidade dos mecanismos responsáveis pelas diferenças específicas de cada isoforma da ApoE no desenvolvimento da DA.

No entanto, e como é mencionado em vários estudos publicados, a investigação tem de continuar pois só assim é que no futuro será possível combater a DA seja através da descoberta de um tratamento que modifique o curso da doença ou pelo diagnóstico precoce e atenuação dos mecanismos patológicos associados à doença.

A partir do que foi referido, é possível concluir que a ApoE4 influencia o surgimento e desenvolvimento da DA e é por isso importante avaliar de que forma afeta realmente os mecanismos fisiopatológicos para que assim se possam produzir fármacos seletivos que permitam reduzir possíveis efeitos adversos.

Como futuro farmacêutico, esta monografia permitiu uma compreensão muito mais pormenorizada da DA e de tudo o que ela implica no doente e nos que estão à sua volta. Também permitiu concluir que, felizmente, muitos profissionais de saúde trabalham todos os dias, incansavelmente, por uma melhor compreensão desta doença e pela descoberta de fármacos que permitam uma melhor qualidade de vida a todos os doentes.

Como futuro profissional de saúde é importante que prossiga uma atualização contínua de todos os avanços na área da saúde e do medicamento. Em relação à DA, é não só importante haver essa atualização, como também ter-se os conhecimentos necessários para que se possa prestar aos portadores e familiares o apoio necessário aquando do aconselhamento.

7 BIBLIOGRAFIA

1. MAX ROSER, EO-O, H.R. - **Life Expectancy - Our World in Data.** (2013). [Acedido a 11 de junho de 2020]. Disponível na Internet: <https://ourworldindata.org/life-expectancy>
2. LIU C.C., KANEKIYO T., XU H.B.G. - **Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy.** *Nat Rev Neurosci.* 9 (2013) 106-118.
3. **The top 10 causes of death.** (2018) [Acedido a 15 de abril de 2020]. Disponível na Internet: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
4. SCHELTENS P., BLENNOW K., BRETELER M.M.B., STROOPER B.D., FRISONI G.B., SALLOWAY S., VAN DER FLIER W.M. - **Alzheimer's disease.** *Lancet.* 388 (2016) 505-517.
5. VATANABE I.P., MANZINE P.R., COMINETTI M.R. - **Historic concepts of dementia and Alzheimer's disease: From ancient times to the present.** *Rev Neurol (Paris).* 176 (2020) 140-147.
6. MASTERS C.L., BATEMAN R., BLENNOW K., ROWE C.C., SPERLING R.A., CUMMINGS J.L. - **Alzheimer's disease.** *Nat Rev Dis Prim.* 1 (2015) 1-18.
7. LANE C.A., HARDY J., SCHOTT J.M. - **Alzheimer's disease.** *Eur J Neurol.* 25 (2018) 59-70.
8. GAUGLER J., JAMES B., JOHNSON T., SCHOLZ K., WEUVE J. - **2016 Alzheimer's disease facts and figures.** *Alzheimer's Dement.* 12 (2016) 459-509.
9. NUSSBAUM R.L., ELLIS C.E. - **Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease.** *N Engl J Med.* 348 (2003) 1356-642003.
10. ANTONARAKISI S.E., SKOTKO B.G., RAFII M.S., STRYDOM A., PAPE S.E., BIANCHI D.W., SHERMAN S.L., REEVES R.H. - **Down syndrome.** *Nat Rev Dis Prim.* 6 (2020) 1-20.
11. ARTIGA M.J., BULLIDO M.J., SASTRE I., RECUERO M., GARCÍA M.A., ALDUDO J., VAÈZQUEZ J., VALDIVIESO F. - **Allelic polymorphisms in the transcriptional regulatory region of apolipoprotein E gene.** *FEBS Lett.* 421 (1998) 105-108.
12. ARBOR S.C., LAFONTAINE M., CUMBAY M. - **Amyloid-beta Alzheimer targets — protein processing, lipid rafts, and amyloid-beta pores.** *Yale J Biol Med.* 89 (2016) 5-21.

13. ERIC NORSTROM - **Metabolic Processing of the Amyloid Precursor Protein — New Pieces of the Alzheimer’s Puzzle**. *Discovery Medicine*. (2017) [Acedido a 23 de abril de 2020]. Disponível na Internet: <http://www.discoverymedicine.com/Eric-Norstrom/2017/04/metabolic-processing-of-the-amyloid-precursor-protein-new-pieces-of-the-alzheimers-puzzle/>
14. MASTERS C.L., SELKOE D.J. - **Biochemistry of amyloid β -protein and amyloid deposits in Alzheimer disease**. *Cold Spring Harb Perspect Med*. (2012); 2:a066262.
15. IQBAL K., LIU F., GONG C-X., GRUNDKE-IQBAL I. - **Tau in Alzheimer Disease and Related Tauopathies**. *Curr Alzheimer Res*. 7 (2010) 656-664.
16. BASKARAN R., VELMURUGAN B.K. - **Protein phosphatase 2A as therapeutic targets in various disease models**. *Life Sci*. 210 (2018) 40-46.
17. MUÑOZ S.S., GARNER B., OOI L. - **Understanding the Role of ApoE Fragments in Alzheimer’s Disease**. *Neurochem Res*. 44 (2019) 1297-1305.
18. RIEDEL B.C., THOMPSON P.M., BRINTON R.D. - **Age, APOE and sex: Triad of risk of Alzheimer’s disease**. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 160 (2016) 134-147.
19. NAMBA Y., IKEDA K. - **Apolipoprotein B immunoreactivity in cerebral amyloid deposits and neurofibrillary tangles in senile dementia of Alzheimer type**. *Clin Neurol*. 31 (1991) 826-830.
20. MAHLEY R.W., WEISGRABER K.H., HUANG Y. - **Apolipoprotein E: Structure determines function, from atherosclerosis to Alzheimer’s disease to AIDS**. *J Lipid Res*. 50 (2009) 183-188.
21. ZHONG N., WEISGRABER K.H. - **Understanding the association of apolipoprotein E4 with Alzheimer disease: Clues from its structure**. *J Biol Chem*. 284 (2009) 6027-6031.
22. HUANG R.Y.C., GARAI K., FRIEDEN C., GROSS M.L. - **Hydrogen/deuterium exchange and electron-transfer dissociation mass spectrometry determine the interface and dynamics of apolipoprotein e oligomerization**. *Biochemistry*. 50 (2011) 9273-9282.
23. LOUHIIJA J., MIETTINEN H.E., KONTULA K., TIKKANEN M.J., MIETTINEN T.A., TILVIS R.S. - **Aging and genetic variation of plasma apolipoproteins: Relative loss of the apolipoprotein E4 phenotype in centenarians**. *Arterioscler Thromb*. 14 (1994) 1084-1089.

24. HUNSBERGER H.C., PINKY P.D., SMITH W., SUPPIRAMANIAM V., REED M.N. - **The role of APOE4 in Alzheimer's disease: strategies for future therapeutic interventions.** *Neuronal Signal.* 3 (2019) 1-15.
25. KANEKIYO T., XU H., BU G. - **ApoE and A β in Alzheimer's disease: Accidental encounters or partners?** *Neuron.* 81 (2014) 740-754.
26. UDDIN M.S., KABIR M.T., AL MAMUN A., ABDEL-DAIM M.M., BARRETO G.E., ASHRAF G.M. - **APOE and Alzheimer's Disease: Evidence Mounts that Targeting APOE4 may Combat Alzheimer's Pathogenesis.** *Mol Neurobiol.* 56 (2019) 2450-2465.
27. HUANG Y.A., ZHOU B., WERNIG M., SÜDHOF T. C. - **ApoE2, ApoE3, and ApoE4 Differentially Stimulate APP Transcription and A β Secretion.** *Cell.* 168 (2017) 427-441.
28. HOPKINS P.C.R., SÁINZ-FUERTES R., LOVESTONE S. - **The impact of a novel apolipoprotein e and amyloid- β protein precursor-interacting protein on the production of amyloid- β .** *J Alzheimer's Dis.* 26 (2011) 239-253.
29. CHAN W., FORNWALD J., BRAWNER M., WETZEL R. - **Native complex formation between apolipoprotein E isoforms and the Alzheimer's disease peptide A β .** *Biochemistry.* 35 (1996) 7123-7130.
30. CASTANO E.M., PRELLI F., WISNIEWSKI T., GOLABEK A., KUMAR R.A., SOTO C., FRANGIONE B. - **Fibrillogenesis in alzheimer's disease of amyloid β peptides and apolipoprotein E.** *Biochem J.* 306 (1995) 599-604.
31. MA J., YEE A., BREWER J.R.B.H., DAS S., POTTER H. - **Amyloid associated proteins promote beta filaments.** *Lett to Nat.* 372 (1994) 92-94.
32. HASHIMOTO T., SERRANO-POZO A., HORI Y., ADAMS K.W., TAKEDA S., BANERJI A.O., MITANI A., JOYNER D., THYSSEN D.H., BACSKAI B.J., FROSCH M.P., SPIRES-JONES T.L., FINN M.B., HOLTZMAN D.M., HYMAN B.T. - **Apolipoprotein e, especially apolipoprotein E4, increases the oligomerization of amyloid β peptide.** *J Neurosci.* 32 (2012) 15181-15192.
33. CERF E., GUSTOT A., GOORMAGHTIGH E., RUYSSCHAERT J-M., RAUSSENS V. - **High ability of apolipoprotein E4 to stabilize amyloid- β peptide oligomers, the pathological entities responsible for Alzheimer's disease.** *FASEB J.* 25 (2011) 1585-1595.

34. HATTERS D.M., ZHONG N., RUTENBER E., WEISGRABER K.H. - **Amino-terminal Domain Stability Mediates Apolipoprotein E Aggregation into Neurotoxic Fibrils.** *J Mol Biol.* 361 (2006) 932-944.
35. LIU C.C., HU J., ZHAO N., WANG J., NA W., CIRRITO J.R., KANEKIYO T., HOLTZMAN D.M., BU G. - **Astrocytic LRPI mediates brain A β clearance and impacts amyloid deposition.** *J Neurosci.* 37 (2017) 4023-4031.
36. THEENDAKARA V., BREDESEN D.E., RAO R.V. - **Downregulation of protein phosphatase 2A by apolipoprotein E: Implications for Alzheimer's disease.** *Mol Cell Neurosci.* 83 (2017) 83-91.
37. SAFIEH M., KORCZYN A.D., MICHAELSON D.M. - **ApoE4: an emerging therapeutic target for Alzheimer's disease.** *BMC Med.* 17 (2019) 1-17.
38. DUBNIKOV T., COHEN E. - **The emerging roles of early protein folding events in the secretory pathway in the development of neurodegenerative maladies.** *Front Neurosci.* (2017) 1-8.
39. BRECHT W.J., HARRIS F.M., CHANG S., TESSEUR I., YU G.Q., XU Q., FISH J.D., WYSS-CORAY T., BUTTINI M., MUCKE L., MAHLEY R.W., HUANG Y. - **Neuron-Specific Apolipoprotein E4 Proteolysis Is Associated with Increased Tau Phosphorylation in Brains of Transgenic Mice.** *J Neurosci.* 24 (2004) 2527-2534.
40. HARRIS F.M., BRECHT W.J., XU Q., MAHLEY R.W., HUANG Y. - **Increased tau phosphorylation in apolipoprotein E4 transgenic mice is associated with activation of extracellular signal-regulated kinase. Modulation by zinc.** *J Biol Chem.* 279 (2004) 44795-44801.
41. HENEKA M.T., MCMANUS R.M., LATZ E. - **Inflammasome signalling in brain function and neurodegenerative disease.** *Nat Rev Neurosci.* 19 (2018) 610-621.
42. FAN Y.Y., CAI Q.L.E, GAO Z.Y., LIN X., HUANG Q., TANG W., LIU J.H. - **APOE ϵ 4 allele elevates the expressions of inflammatory factors and promotes Alzheimer's disease progression: A comparative study based on Han and She populations in the Wenzhou area.** *Brain Res Bull.* 132 (2017) 39-43.
43. YAMAZAKI Y., PAINTER M.M., BU G., KANEKIYO T. - **Apolipoprotein E as a Therapeutic Target in Alzheimer's Disease: A Review of Basic Research and Clinical Evidence.** *CNS Drugs.* 30 (2016) 773-789.

44. ZHANG F., WEN Y., GUO X. - **CRISPR/Cas9 for genome editing: progress, implications and challenges.** *Ser Sect Norris Med Libr.* (2014) 1-21.
45. LIAO F., LI A., XIONG M., BIEN-LY N., JIANG H., ZHANG Y. , FINN M.B., HOYLE R., KEYSER J., LEFTON K.B., ROBINSON G.O., SERRANO J.R., SILVERMAN A.P., GUO J.L., GETZ J., HENNE K., LEYNS C.E., GALLARDO G., ULRICH J.D., SULLIVAN P.M., LERNER E.P., HUDRY E., SWEENEY Z.K., DENNIS M.S., HYMAN B.T., WATTS R.J., HOLTZMAN D.M. - **Targeting of nonlipidated, aggregated apoE with antibodies inhibits amyloid accumulation.** *Clin Invest.* 128 (2018) 2144-2155.
46. CAO J., HOU J., PING J., CAI D. - **Advances in developing novel therapeutic strategies for Alzheimer's disease.** *Mol Neurodegener.* 13 (2018) 1-20.
47. CONDELLO C., YUAN P., SCHAIN A., GRUTZENDLER J. - **Microglia constitute a barrier that prevents neurotoxic protofibrillar A β 42 hotspots around plaques.** *Nat Commun.* 6 (2015).
48. GHOSAL K., STATHOPOULOS A., THOMAS D., PHENIS D., VITEK M.P., PIMPLIKAR S.W. - **The apolipoprotein-E-mimetic COG112 protects amyloid precursor protein intracellular domain-overexpressing animals from alzheimer's disease-like pathological features.** *Neurodegener Dis.* 12 (2013) 51-58.
49. VITEK M.P., CHRISTENSEN D.J., WILCOCK D., DAVIS J., VAN NOSTRAND W.E., LI F.Q., COLTON C.A. - **APOE-mimetic peptides reduce behavioral deficits, plaques and tangles in Alzheimer's disease transgenics.** *Neurodegener Dis.* 10 (2012) 122-126.