



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Mariana Ferreira Domingues

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Uso Terapêutico do Pólen de Abelha na Perturbação do Espectro do Autismo” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Ana Patrícia David, da Dra. Ana Sofia Silva e do Professor Doutor António Paranhos e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2021



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Mariana Ferreira Domingues

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Uso Terapêutico do Pólen de Abelha na Perturbação do Espectro do Autismo” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Ana Patrícia David, da Dra. Ana Sofia Silva e do Professor Doutor António Paranhos e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2021

Declaração de Autoria

Eu, Mariana Ferreira Domingues, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2016234284, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Uso Terapêutico do Pólen de Abelha na Perturbação do Espectro do Autismo” 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, 14 de setembro de 2021.



(Mariana Ferreira Domingues)

Agradecimentos

Ao Professor Doutor António Henrique Silva Paranhos pela paciência, disponibilidade e orientação na elaboração da presente Monografia.

À Dra. Ana Patrícia David, que me orientou durante o Estágio na Farmácia Nazareth, ao Sr. Rui Fonseca e à Kelly Correia pela forma como me acolheram, pelos conhecimentos partilhados, pelo apoio e acima de tudo pela amizade criada.

À Dra. Ana Sofia Silva, orientadora de Estágio em Indústria Farmacêutica, pela acessibilidade, disponibilidade e compreensão e a toda a equipa do Departamento de *Compliance* da Bluepharma, pelo acolhimento, pela paciência e pela oportunidade proporcionada de crescimento profissional.

À Dona Laurinda por me ter proporcionado uma experiência tão boa enquanto inquilina e por toda a ajuda e disponibilidade.

Às minhas colegas de casa, Raquel Fagundes e Joana Ramalho, pela constante companhia, pelo apoio, pela paciência e pela bonita amizade que formámos. Foram muitas as memórias criadas que eu lembrarei para sempre com muito carinho.

Às amigas que Coimbra me deu e que eu levarei para a vida, em especial, à Isa, à Miriam, à Sofia, à Sílvia, à Joana, à Catarina e à Maria João, por terem participado nos momentos mais importantes da minha vida académica, por me terem acompanhado em todas as etapas desta longa caminhada e por todo o apoio durante a mesma.

Aos amigos de sempre por compreenderem a falta de tempo e as várias ausências e por se terem mantido disponíveis para apoiar sempre que assim fosse necessário.

Aos meus pais, Lurdes e Pedro, por estarem sempre ao meu lado, pela paciência, pelo esforço e por me terem proporcionado a oportunidade de viver esta experiência, já que sem eles nada disto teria sido possível. A vocês nunca conseguirei agradecer o suficiente.

Ao meu irmão, Tiago, pela ajuda dada ao assumir mais responsabilidades na minha ausência,
pela compreensão e carinho dado ao longo destes anos.

À minha irmã, Hélia, por toda a ajuda e apoio incondicional, pelo companheirismo e
compreensão, por acreditar sempre em mim e dar-me sempre forças para nunca desistir.

Um obrigada não chega.

Ao meu amor, Hugo, que reencontrei entre esta jornada, pela paciência, pela espera, pela
força e carinho dado, mesmo estando tão longe.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, que tão bem me acolheu durante
estes 5 anos e que me proporcionou a aquisição de todos os conhecimentos que agora
tenho, fazendo-me sentir pronta a assumir o papel de uma profissional de saúde de
excelência.

A Coimbra, a mais bonita cidade de estudantes onde pude viver os melhores cinco anos da
minha vida, por ter sido a minha segunda casa, por me ter dado os amigos que deu, por me
ter visto crescer e por todas os momentos que nela vivi. Entrei menina e parto mulher,
farmacêutica, já com saudade e eternamente agradecida.

A todos, um Sentido Obrigada!

ÍNDICE

PARTE I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Siglas e Abreviaturas	8
1. Introdução.....	10
2. Análise SWOT	11
2.1. Pontos Fortes.....	11
2.1.1. Acessibilidade na integração da equipa	11
2.1.2. Aprendizagem por fases	11
2.1.3. Sifarma 2000®	12
2.1.4. Perfil dos utentes	12
2.1.5. Fichas de utente	13
2.1.6. Contacto com diferente tipo de receitas.....	13
2.1.7. Produtos dermocosméticos	14
2.1.8. Formação contínua	14
2.2. Pontos Fracos	14
2.2.1. Inexistência da realização de medicamentos manipulados	14
2.2.2. Inexistência de medicação de parâmetros bioquímicos.....	15
2.2.3. População muito homogénea.....	15
2.2.4. COVID-19	15
2.3. Oportunidades.....	16
2.3.1. Cartão Saúda+	16
2.3.2. Localização próxima do Centro de Saúde.....	16
2.3.3. Números de estagiários	17
2.4. Ameaças	17
2.4.1. Medicamentos esgotados.....	17
2.4.2. Falta de contacto prévio com nomes comerciais.....	17
2.4.3. Alteração frequente dos códigos dos medicamentos	18
3. Casos Clínicos.....	19
3.1. Reação alérgica facial a Peroxiben®	19
3.2. Vermelhidão da pálpebra.....	19
3.3. Tosse.....	20
4. Considerações Finais	21
5. Referências Bibliográficas.....	22

PARTE II - Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Lista de Siglas e Abreviaturas	24
1. Introdução.....	25
2. Bluepharma – Indústria Farmacêutica.....	26
3. Departamento de <i>Compliance</i>	26
4. Atividades Desenvolvidas	27
5. Análise SWOT	28
5.1. Pontos Fortes.....	28
5.1.1. Integração na equipa e no ambiente empresarial	28
5.1.2. Formação Interna.....	28
5.1.3. Filosofia <i>Kaizen</i>	28
5.1.4. Autonomia e Flexibilidade	29
5.1.5. Cantina/Subsídio de Alimentação.....	29

5.2.	Pontos Fracos	30
5.2.1.	Covid-19	30
5.2.2.	Diferentes departamentos.....	30
5.3.	Oportunidades.....	30
5.3.1.	Aprofundar conhecimentos.....	30
5.3.2.	Contacto com entidades reguladoras	31
5.3.3.	Teletrabalho	31
5.4.	Ameaças	31
5.4.1.	Sobrecarga de atividades.....	31
6.	Considerações Finais.....	33
7.	Referências Bibliográficas	34

PARTE III - Monografia: O Uso Terapêutico do Pólen de Abelha na Perturbação do Espectro do Autismo

Resumo	36	
Abstract	37	
Lista de Siglas e Acrónimos.....	38	
1.	Introdução.....	39
2.	A Doença	40
2.1.	Evolução da definição	40
2.2.	Etiologia.....	40
2.2.1.	Fatores Genéticos	41
2.2.2.	Epigenética e Fatores Ambientais.....	41
2.3.	Neurobiologia da PEA.....	42
2.4.	Ferramentas e Critérios de Diagnóstico	43
2.5.	Comorbilidades associadas à PEA.....	45
2.6.	Esquemas Terapêuticos Atuais.....	46
3.	O Pólen.....	48
3.1.	Caracterização	48
3.2.	Composição	48
3.3.	Propriedades	50
3.3.1.	Atividades antibacteriana e antifúngica	50
3.3.2.	Atividade anticancerígena.....	50
3.3.3.	Atividade anti-inflamatória.....	51
3.3.4.	Atividade antioxidante	51
3.3.5.	Atividades cardioprotetora e antiaterosclerótica	51
3.3.6.	Atividade hepatoprotetora.....	52
3.3.7.	Imunoestimulante /Antialérgico.....	52
4.	A Aplicabilidade do Pólen na PEA	53
5.	Obstáculos/Futuro	59
5.1.	Variabilidade da Composição	59
5.2.	Biodisponibilidade	59
5.3.	Contaminantes.....	59
5.4.	Alergias.....	60
6.	Conclusão	61
7.	Referências Bibliográficas.....	62

PARTE I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Nazareth



Sob orientação da Dra. Ana Patrícia David

Lista de Siglas e Abreviaturas

DCI: Denominação Comum Internacional

DGS: Direção Geral de Saúde

FC: Farmácia Comunitária

FFUC: Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FN: Farmácia Nazareth

MICF: Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM: Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

MSRM: Medicamento Sujeito a Receita Médica

SMS: *Short Message Service*

SWOT: *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) é um curso, de duração de 5 anos, que permite obter o título de farmacêutico.

Este curso é constituído por uma componente teórica robusta e multidisciplinar que culmina com um estágio curricular, no último semestre, para permitir aos alunos e futuros profissionais de saúde, contactar com o mercado de trabalho e experienciar aquela que é a função de um farmacêutico. Além disso, possibilita que os mesmos ponham em prática e aprofundem os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do percurso académico.

Neste sentido, são disponibilizados aos alunos várias áreas de estágio, sendo a Farmácia Comunitária (FC) essencial e, por isso, obrigatória, uma vez que esta é a área na qual existe o contacto direto com o utente e onde o farmacêutico pode intervir diretamente na saúde dos seus utentes, tendo um papel diário de aconselhamento e promoção de saúde com grande impacto na sociedade.

O presente relatório pretende representar a experiência vivenciada na Farmácia Nazareth, em Coimbra, sob a orientação da Dra. Ana Patrícia David, farmacêutica substituta, e apresenta-se sobre a forma de análise SWOT, ou seja, uma análise que é feita avaliando o ambiente interno da empresa, através da análise dos Pontos Fortes (*Strenghts*) e dos Pontos Fracos (*Weaknesses*) e avaliando o ambiente externo, ao analisar as Oportunidades (*Opportunities*) e Ameaças (*Threats*), do meio em que se insere.

2. Análise SWOT

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Acessibilidade na integração da equipa

A equipa da Farmácia Nazareth, sendo uma equipa pequena, constituída por quatro elementos, dois farmacêuticos e dois técnicos de farmácia, permitiu uma integração rápida e a criação de uma boa relação com todos e enquanto equipa. Esta excelente receptividade denotou-se na disponibilidade em explicar tanto o funcionamento interno da farmácia como em formar-me quanto aos produtos existentes na mesma, o que possibilitou uma rápida familiarização com a gama de produtos disponíveis e ofereceu-me confiança suficiente para questionar todas as minhas dúvidas, sem qualquer tipo de constrangimento.

Além disso, é uma equipa com grande experiência e conhecimento científico e clínico, mas com espírito jovem, tendo como foco principal a saúde e bem-estar dos seus utentes, espelhando-se na boa relação que existe com os seus utentes, o que facilitou também a minha fase inicial do atendimento ao público.

2.1.2. Aprendizagem por fases

Dada a grande transição que é passar das aulas teóricas ao exercício da profissão num ambiente totalmente desconhecido para nós, é de extrema importância que essa integração e processo de aprendizagem seja feito em etapas, de modo, a que a aquisição de conhecimentos e a posta em prática da atividade seja o mais fácil e eficaz possível.

Assim se realizou o meu estágio. Primeiramente, comecei por observar os procedimentos dos colegas no que diz respeito ao chamado trabalho de *back-office*, ou seja, receção de encomendas dos diferentes fornecedores, arrumação dos medicamentos sujeitos e não sujeitos a receita médica e produtos de saúde e bem-estar, familiarizando-me com os respetivos locais de arrumação e categorização e as devoluções. Depois essa tarefa foi-me atribuída, tendo sempre alguém a quem recorrer no surgimento de dúvidas.

Também acompanhei os procedimentos burocráticos associados à faturação de final de mês e procedi à conferência do receituário, tendo esta atividade sido precedida de uma explicação sobre os diferentes subsistemas de saúde e organismos de participação existentes.

Paralelamente a estas tarefas, acompanhei os atendimentos dos colegas, o que me permitiu não só ir conhecendo o sistema informático utilizado, Sifarma 2000® e Sifarma®

Módulo de Atendimento, como também estar atenta a casos e problemas dos utentes e respetiva indicação farmacêutica mais adequada dada pelos colegas.

Numa fase posterior, além das tarefas de *back-office* anteriormente referidas, passei a fazer atendimento ao público sob supervisão e na fase final, já mais preparada e confiante, iniciei o atendimento e aconselhamento farmacêutico sozinha.

Esta aprendizagem em fases permitiu que no momento de atendimento ao público já estivesse bem familiarizada com os locais de arrumação dos diferentes medicamentos e produtos, minimizando o tempo de procura dos mesmos, e também que me sentisse mais segura em proceder a aconselhamento farmacêutico.

2.1.3. Sifarma 2000®

O *software* informático utilizado pela Farmácia Nazareth é o Sifarma 2000® em conjunto com o Sifarma® Módulo de Atendimento. Este último constitui uma versão mais recente do Sifarma 2000®, que por estar ainda em construção e possuir ainda só ferramentas referentes ao atendimento, necessita da utilização concomitante do Sifarma 2000® para todos os outros processos relacionais com a gestão (gestão de *stock*, encomendas, devoluções e receituário). Ainda assim, esta versão mais atualizada revelou-se muito útil e garantiu-me uma aprendizagem mais rápida, dada a sua estrutura intuitiva e fácil de utilizar, permitindo um atendimento menos moroso e mais fácil de corrigir eventuais enganos. Este sistema permite o rápido acesso às fichas dos utentes e rápido pedido de encomendas instantâneas.

Além disso, possibilita ainda realizar a dispensa de várias receitas ao mesmo tempo em nomes de pessoas diferentes, facilitando mais uma vez o atendimento e reduzindo o tempo do mesmo.

2.1.4. Perfil dos utentes

Dada a localização da farmácia, que é numa zona de Coimbra que se encontra perto das faculdades e do Hospital Universitário de Coimbra, nomeadamente habitada por atuais ou antigos profissionais de saúde, havendo também muitos estudantes estrangeiros, os utentes da farmácia rangiam todas as faixas etárias. Era notável o elevado grau de literacia, mesmo da população mais idosa, estando já muito cientes da importância de se ter certos cuidados de saúde e, por isso, facilmente recetivos ao aconselhamento de produtos, nomeadamente dermocosméticos.

A grande fidelização dos utentes à Farmácia Nazareth, permite a criação de uma ligação próxima entre nós, profissionais de saúde, e o utente, possibilitando um atendimento

personalizado e o acompanhamento próximo do estado clínico do mesmo e maior rastreabilidade quanto aos medicamentos e outros produtos utilizados por eles.

2.1.5. Fichas de utente

A Farmácia Nazareth tem o princípio da criação de ficha de utente bem estabelecido, o que é uma mais-valia não só para nós enquanto profissionais de saúde, como para o próprio utente, pois permite que seja feito o registo contínuo dos medicamentos e produtos adquiridos pelo utente, o que facilita não só em momentos em que o utente não sabe os laboratórios dos quais costuma adquirir dos seus medicamentos ou quando quer voltar a levar algum produto que levou no passado, assim como permite que seja detetada alguma interação medicamentosa quando existe uma nova prescrição; permite também o registo de informações pessoais, como por exemplo o número de telemóvel, muito útil em situações de deteção de erros na dispensa de medicamentos ou no aviso de chegada de algum medicamento ou produto pedido; e permite ainda a associação do cartão Saúda+, evitando ter de perguntar se o utente quer associar este cartão a cada atendimento.

2.1.6. Contacto com diferente tipo de receitas

O formato de receita mais comumente utilizado é a receita eletrónica em papel, no entanto, por vários fatores diferentes, tive oportunidade de contactar frequentemente com os outros tipos de receita existentes.

Primeiramente, devido ao facto de que muitos dos utentes da farmácia serem atuais ou antigos prescritores, muitas das suas receitas eram manuais, o que exigiu da minha parte uma atenção redobrada e uma validação de todas as informações nelas escritas de modo a fazer a dispensa correta dos medicamentos.

Em segundo lugar, apesar da maioria das receitas que chegavam a mim serem receitas eletrónicas em papel, o contexto pandémico vivido no último ano e durante o qual realizei o meu estágio, favoreceu ainda mais a desmaterialização das receitas eletrónicas, e por isso, muitas das receitas médicas que dispensei eram eletrónicas em formato SMS.

Além disto, os utentes da Farmácia Nazareth são bastante heterogéneos quanto aos sistemas de participação, o que exigiu que me familiarizasse com os mesmos, nomeadamente nos casos em que as receitas eram manuais, uma vez que nestes casos é necessário introduzir manualmente o sistema de participação em questão, se assim se aplicar.

2.1.7. Produtos dermocosméticos

A Farmácia Nazareth é uma farmácia grande com vários lineares dedicados a produtos dermocosméticos de várias marcas diferentes, oferecendo uma variedade de gamas para todos os tipos de pele, características e problemas de modo a responder às diferentes necessidades e gostos dos seus utentes.

É uma vertente bastante trabalhada e pela qual muitos utentes se dirigem a esta farmácia, além disso, a excelente formação e conhecimentos dos produtos existentes por parte dos colaboradores e respetiva explicação aos utentes, faz com que estes se sintam seguros na aquisição dos mesmos e que os produtos sejam sempre os mais adequados às exigências e às expectativas do utente.

2.1.8. Formação contínua

Durante o meu estágio na FN tive oportunidade de realizar várias formações promovidas pelo Grupo L'Oréal, relativamente às marcas VICHY®, LA ROCHE POSAY® e CERAVE®, sobre as várias gamas que possuem, o que foi uma mais-valia e essencial para me dar a conhecer as características específicas de cada produto, muito importante de saber e ter em conta no momento de aconselhar o produto dermocosmético.

Considero que estas formações foram essenciais, pois capacitaram-me de um conhecimento aprofundado dos produtos, dando-me elevada confiança para proceder ao aconselhamento e responder a eventuais dúvidas por parte do utente.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Inexistência da realização de medicamentos manipulados

A preparação de medicamentos manipulados, apesar de ser uma tarefa integrante da atividade farmacêutica, tem caído em desuso devido à resposta que a indústria farmacêutica tem dado ao comercializar várias formas farmacêuticas que ficam mais económicas para o utente. Ainda assim, existe a prescrição de medicamentos manipulados por parte dos médicos, no entanto, como esta frequência é reduzida, muitas vezes os gastos em matérias-primas não justificam o investimento e a realização deste tipo de medicamentos, pelo que nem todas as farmácias prestam este serviço e alocam, nestes casos, os seus utentes para a farmácia mais próxima que o façam. Este é o caso da Farmácia Nazareth, que apesar de ter condições de trabalho para tal, não realiza medicamentos manipulados com muita frequência, pelo que não tive oportunidade de contactar com este tipo de tarefa durante o tempo do meu estágio.

Penso que apesar da frequência da solicitação e realização de manipulados não ser muito grande, seria uma mais-valia ver e pôr em prática os conhecimentos galénicos adquiridos ao longo do MICF, tratando-se assim de um ponto menos positivo da minha experiência na Farmácia Nazareth.

2.2.2. Inexistência de medicação de parâmetros bioquímicos

O meu tempo de estágio decorreu em pleno pico de casos de COVID-19 em Portugal, pelo que a preocupação em manter o distanciamento social, evitar contactos e desinfetar constantemente mãos e equipamentos era muita. Neste sentido, foi opção da Farmácia Nazareth deixar de realizar qualquer tipo de medição de parâmetros bioquímicos, para que assim se minimizasse a aproximação entre nós, profissionais de saúde, e o utente, de modo a evitar eventuais casos de infeção e respetiva propagação do vírus.

A meu ver este é o tipo de serviço muito importante de se ter numa farmácia e pelo qual há muitos utentes a recorrer, pelo que a não realização deles foi um ponto fraco do meu estágio, no entanto, dado o contexto e motivo pelo qual este serviço deixou de ser realizado, penso que esta escolha terá sido a mais correta.

2.2.3. População muito homogénea

Apesar do lado positivo referido anteriormente relativamente aos utentes da farmácia serem pessoas, na sua maioria com elevado grau de literacia, o facto de serem muitas delas da área da saúde, nomeadamente médicos, fez com a necessidade de expor os meus conhecimentos científicos no que diz respeito a posologias, interações e mesmo aconselhamento farmacêutico não fosse tão testado e necessitado, quanto seria caso os utentes não tivessem formação na área da saúde.

2.2.4. COVID-19

A pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2 trouxe muitas dificuldades à população em geral, exigiu uma adaptação de todos nós e o recurso a medidas de proteção essenciais para a contenção da propagação do vírus, nomeadamente o uso de máscaras faciais e de vidro acrílico nos balcões de atendimento (DGS, 2020).

A adoção destas medidas de segurança, apesar de essenciais, apresentaram ser uma das minhas maiores dificuldades, principalmente na fase inicial do atendimento ao público, pois a comunicação, por motivos acústicos, passou a ser mais difícil, exigindo da minha parte um

esforço acrescido em compreender a informação transmitida pelo utente, tendo chegado a necessitar pedir ajuda aos colegas, nomeadamente quando se tratava de medicamentos ou produtos com os quais estava ainda pouco familiarizada. E, por sua vez, que também tivesse maior cuidado na transmissão da informação para garantir que o utente compreendia corretamente o que lhe estava a dizer.

O confinamento estipulado pelo governo devido à pandemia também afetou em muito a minha experiência de estágio, na minha opinião, uma vez que alterou drasticamente o movimento habitual da farmácia, notando-se que as deslocações à farmácia passaram a restringir-se ao estritamente necessário, concentrando num só momento de atendimento todos os pedidos de dispensa.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Cartão Saúde+

A associação da Farmácia Nazareth à Associação Nacional de Farmácias e ao programa Saúde+ e a constante preocupação em questionar os utentes sobre o seu conhecimento, é uma mais-valia, não só para farmácia, como também para o utente, que pode usufruir de campanhas promovidas pelo programa, assim como de descontos associados aos pontos que são acumulados ao longo dos consumos feitos na farmácia. Isto motiva o consumo saudável por parte do utente e beneficia os mesmos ao lhes ser oferecido rebaixar nos valores de compra.

2.3.2. Localização próxima do Centro de Saúde

O facto da Farmácia Nazareth se encontrar numa rua com um centro de saúde tem o potencial de se tornar a farmácia à qual a população se dirige depois de uma consulta no seu médico de família. Assim sendo, seria muito vantajoso para a farmácia criar uma ligação mais próxima com ele, como por exemplo, conhecer e ter o contacto dos médicos que nele exercem, de modo a favorecer e facilitar a eventual necessidade de contactar o médico de um utente da farmácia. Além disso, esta ligação mais próxima poderia permitir que a farmácia construísse um sortido e *stock* de medicamentos mais adequado às prescrições feitas no centro de saúde, de modo a satisfazer o melhor possível a necessidade dos utentes que de lá vêm.

2.3.3. Números de estagiários

Um dos motivos pelos quais a Farmácia Nazareth me interessou como sendo o local para realizar o meu estágio foi o facto de admitir apenas uma vaga. Isto permitiu que a atenção e a disponibilidade em ensinar e supervisionar as minhas tarefas estivesse apenas alocada a mim, pelo que as tarefas não tinham a necessidade de ser divididas e, por isso, possibilitou que as mesmas fossem aprendidas mais rapidamente e aperfeiçoadas.

2.4. Ameaças

2.4.1. Medicamentos esgotados

A questão dos medicamentos esgotados é um problema que afeta as farmácias e que pode ter grande impacto na saúde dos utentes, nomeadamente quando não existe outro medicamento similar que possa servir de substituto.

A Farmácia Nazareth tenta colmatar este flagelo estando atenta diariamente à disponibilidade dos medicamentos que costumam estar esgotados, no entanto, ainda assim, acontece por vezes não ser possível dispensar os medicamentos solicitados por não os ter disponíveis na farmácia, nem ser possível pedir ao armazenista, nem saber quando é que será possível consegui-lo. Isto aconteceu com o medicamento genérico da molécula Diazepam 5 mg tanto de 20 como de 60 comprimidos e, uma vez que o medicamento equivalente de marca Valium® 5 mg tem apenas 25 comprimidos, este não podia ser dispensado como substituto usando a mesma receita, pelo que chegou a acontecer aconselhar uma utente a pedir ao médico que passasse uma nova receita com o medicamento Valium® 5 mg, para que conseguisse o medicamento com o mesmo princípio ativo, apesar de um laboratório diferente, para que não fosse obrigada a interromper o tratamento.

2.4.2. Falta de contacto prévio com nomes comerciais

A formação teórica dada durante os nove semestres de aulas no MICF é direccionada para os nomes dos princípios ativos, não havendo uma prática geral de introduzir ao mesmo tempo os nomes comerciais dos respetivos medicamentos. Isso levou a que no início do meu estágio o conhecimento dos medicamentos por nome comercial fosse muito reduzido, sendo muito difícil conseguir responder a questões feitas pelos utentes quando estes se referiam ao medicamento pelo nome comercial.

Além disso, apesar da existência da Lei n.º 11/2012, de 8 de março, regulamentada pela Portaria n.º 137-A/2012, de 11 de maio, que estabeleceu a obrigatoriedade de prescrição de

medicamentos por Denominação Comum Internacional (DCI), muitas foram as receitas médicas que me chegaram prescritas pelo nome comercial (INFARMED, IP., 2019a; 2919b).

Isto obrigou-me a um estudo dos medicamentos individualizado de forma a conseguir familiarizar-me com os nomes comerciais existentes e associá-los aos respetivos princípios ativos e classe terapêutica e a recorrer aos itens sobre as informações do medicamento no sistema Sifarma 2000[®] Módulo de Atendimento, para que o meu atendimento fosse o mais eficiente possível.

2.4.3. Alteração frequente dos códigos dos medicamentos

Durante o tempo que estive na FN, presenciei por várias vezes o impacto que a alteração de códigos de medicamentos tem para o utente e para a farmácia.

Este problema surge quando as atualizações de códigos não são feitas ao mesmo tempo no sistema informático médico e no sistema informático das farmácias, o que leva a que o médico prescreva na receita eletrónica um medicamento com um código depois não reconhecido no sistema da farmácia, não nos sendo possível associar o medicamento à receita e assim, vendê-lo com a respetiva comparticipação. Isto causa constrangimentos para o utente, uma vez que têm de voltar a entrar em contacto com o médico, para que lhe seja passada uma nova receita com o novo código, tornando o processo de dispensa de medicamentos mais demorado e complicado.

3. Casos Clínicos

3.1. Reação alérgica facial a Peroxiben®

Dirigiu-se à farmácia uma mãe e uma jovem adolescente preocupadas, à procura de um aconselhamento e solução rápida para uma reação alérgica cutânea facial que surgiu após a jovem ter utilizado o gel Peroxiben® 50 mg/g Peróxido de Benzoílo. Este é um produto não sujeito a receita médica indicado para o tratamento local da acne leve a moderada.

Após algumas questões relativamente ao modo como foi utilizado o gel percebi que se tratava de um caso de reação alérgica agudo ao tratamento.

Para além de aconselhar a paragem imediata da utilização do gel, o meu foco foi fornecer um tratamento que permitisse o alívio rápido da sensação de ardor e vermelhidão. Neste sentido, recorri à gama Sensibio da marca Bioderma®, indicada para peles sensíveis e com tendência a vermelhidão. Uma vez que se tratava um caso de urgência, direcionei-me mais concretamente para o creme Sensibio Forte com indicação para apaziguar e aliviar a inflamação de forma rápida. Outra solução teria sido o creme da gama Toleriane Ultra Fluido, da marca La Roche Posay® disponível na farmácia.

Depois aproveitei para passar informação relativamente aos cuidados diários a ter no caso de uma pele acneica e quais as gamas de produtos mais adequadas para tal, isto é, expliquei a necessidade de fazer uma limpeza bidária, através do recurso a um gel de limpeza, a utilização de um creme fluido com efeito matificante e unificador de poros e a associação de um cuidado de proteção solar para evitar o agravamento das inflamações e aparecimento de manchas, apresentei-lhes ainda soluções de correção SOS locais para ajudar a rápida cicatrização de borbulhas.

A jovem e a mãe mostraram-se muito recetivas e atentas à informação que lhes prestei, tendo levado naquele dia apenas com o creme Sensibio Forte, mas mostraram-se muito agradecidas e referiram que voltaria pelos produtos de cuidados diários.

3.2. Vermelhidão da pálpebra

Dirigiu-se à farmácia um senhor com cerca de 50 anos queixando-se uma irritação cutânea na pálpebra. Depois de perceber que a irritação não estava associada a outro tipo de problema ocular e que se tratava apenas de um problema a nível da pele.

Recomendei-lhe um creme da gama Sensibio da marca Bioderma® direcionado para as pálpebras, mais concretamente, o Sensibio Eye que é um cuidado calmante e hidratante para contorno dos olhos sensível. Para benefício do utente este produto estava até em campanha

promocional, tendo associado gratuitamente a água micelar da mesma gama. Deste modo, aconselhei o utente a limpar a zona ocular com a água micelar recorrendo a um disco de algodão e depois a aplicar o creme na zona irritada.

Além deste produto, outra solução disponível na farmácia era o creme Palpebral by Topialyse da marca SVR[®], que poderia ser associado a toalhetas de limpeza ocular.

3.3. Tosse

Um jovem estrangeiro em Erasmus em Coimbra, dirigiu-se à farmácia para solicitar algo para a tosse. Uma vez que a tosse pode ter várias etiologias e pode ser de vários tipos, comecei por perguntar-lhe há quanto tempo tinha começado, ao que respondeu que era recente e que acreditava ser devido a uma constipação, piorada pelo tabaco, uma vez que era fumador ativo. Disse também que se tratava de uma tosse com expetoração.

Com estes dados, recomendei que tomasse um mucolítico, como a acetilcisteína, para que houvesse expulsão da expetoração e extrusão das vias respiratórias. Uma vez que a farmácia possui vários medicamentos com diferentes formas farmacêuticas com acetilcisteína, questionei o jovem se tinha preferência entre xarope e comprimidos efervescentes, ao que ele respondeu os comprimidos, além disso, acrescentou que queria a marca que fosse mais barata. Assim sendo, indiquei-lhe os comprimidos efervescentes de acetilcisteína de 600 mg da marca de genéricos Pharmakern[®] e recomendei-lhe que tentasse diminuir o consumo de tabaco e que aumentasse a ingestão de líquidos como medidas não farmacológicas. Além disso, alertei para o facto de que se não houvesse melhorias dos sintomas em 3 a 4 dias, deveria consultar um médico.

4. Considerações Finais

O MIFC é, de facto, um curso extenso que fornece aos alunos que o frequentam um vasto leque de conhecimentos teóricos em diferentes áreas, mas mais importante que isso, é um curso que capacita os seus alunos de ferramentas e meios onde procurar informação atualizada e fidedigna, procurar estimular a capacidade de integrar conhecimento e fomenta o desenvolvimento de espírito crítico, competência esta muito importante num profissional de saúde como é o farmacêutico. Ainda assim, não seria um curso completo se não integrasse no seu plano curricular um estágio, pois é o estágio que exige a real aplicação dos conhecimentos e competências adquiridas e ainda que permite obter outro tipo de conhecimentos não lecionados ao longo do curso.

A minha experiência na Farmácia Nazareth corrobora exatamente isso, pois apesar de no início do meu estágio ter conhecimentos científicos adquiridos ao longo dos últimos quatro anos e meio, especialmente das unidades curriculares de Indicação Farmacêutica, Farmacologia e Dermofarmácia e Cosmética, e de ter tido o cuidado de ler sobre os produtos existentes na farmácia, só quando fui posta à prova, ou seja, quando iniciei o atendimento e fazia aconselhamento e indicação terapêutica é que senti que o conhecimento ficava consolidado e aumentava a capacidade de dar solução a cada situação que ia surgindo.

Além disso, durante o meu tempo de estágio foi possível confirmar a importância que uma farmácia e um farmacêutico têm numa comunidade, uma vez que é um dos primeiros locais ao qual as pessoas recorrem para os primeiros cuidados de saúde ou para terem informação sobre questões relacionadas com saúde. São por estas razões que é de extrema importância que um farmacêutico tenha uma formação contínua e que se mantenha sempre atualizado, dada a evolução da área, para que possa oferecer sempre as informações mais atuais e fidedignas. Isto foi particularmente relevante e possível de verificar durante a minha experiência enquanto estagiária, dado o contexto social e de saúde pública em que nos encontramos, isto é, a Pandemia COVID-19. Foi possível verificar que a população se dirigia à farmácia muitas vezes para esclarecer dúvidas sobre as informações que circulavam ou iam mesmo com ideias erradas, pelo que era o nosso papel estar sempre informado sobre as normas mais recentes da DGS e sobre o estado de vacinação em que nos encontrávamos, para conseguir transmitir essas informações da forma mais correta.

Terminei este estágio grata pelo excelente acolhimento da equipa e por todos os conhecimentos que me transmitiram, com uma visão muito positiva da importância do farmacêutico em farmácia comunitária e a sentir-me com capacidades de num futuro enfrentar o mercado de trabalho enquanto farmacêutica e profissional de saúde.

5. Referências Bibliográficas

Portaria n.º 137-A/2012 de 11 de maio. Diário da República n.º 92/2012, 1º Suplemento, Série I de 2012-05-11

INFARMED, IP - **Normas relativas à prescrição de medicamentos e produtos de saúde**. Versão 6.0, 2019a. [Acedido a 22 de junho de 2021]. Disponível na *Internet*: https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas_Prescri%C3%A7%C3%A3o/bcd0b378-3b00-4ee0-9104-28d0db0b7872

INFARMED, IP - **Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde**. Versão 6.0, 2019b. [Acedido a 22 de junho de 2021]. Disponível na *Internet*: https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas_Dispensa/4c1aea02-a266-4176-b3ee-a2983bdf790

DGS - DIREÇÃO - GERAL DE SAÚDE, Norma N.º 003/2020, de 16 de março de 2020, atualizada a 22 de março de 2020 - **Infeção por SARS-CoV-2 (COVID-19): Farmácia comunitária**. [Acedido a 22 de junho de 2021]. Disponível na *Internet*: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0032020-de-19032020-pdf.aspx>

PARTE II

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Bluepharma - Indústria Farmacêutica, SA

Unidade de Qualidade, *Compliance* e Regulamentar

Departamento de *Compliance*



Sob orientação da Dra. Ana Sofia Silva

Lista de Siglas e Abreviaturas

AIM: Autorização de Introdução no Mercado

API: Active Pharmaceutical Ingredient

CEP: Certificates of Suitability

DMF: Drug Master File

EMA: European Medicines Agency

FDA: Food and Drug Administration

FFUC: Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

IF: Indústria Farmacêutica

MICF: Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SWOT: *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. Introdução

Para além do estágio em Farmácia Comunitária, o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), fornece aos seus alunos de 5.º ano outras áreas de escolha, possibilitando que estes tenham mais do que uma experiência profissional durante os seis meses de estágio curricular e, que assim, possam contactar com um leque mais alargado de futuras saídas profissionais e adquirir mais conhecimentos sobre as mesmas.

Um das áreas possíveis é a Indústria Farmacêutica (IF), na qual existem vários departamentos em que um farmacêutico pode integrar, dado a sua vasta e completa formação.

O presente relatório, estruturado em forma de análise SWOT, na qual é avaliado o ambiente interno da empresa, através da análise dos Pontos Fortes (*Strengths*) e dos Pontos Fracos (*Weaknesses*) e é avaliado o ambiente externo, ao analisar as Oportunidades (*Opportunities*) e Ameaças (*Threats*), pretende exhibir a experiência vivenciada durante três meses, na Bluepharma – Indústria Farmacêutica S.A., no departamento de *Compliance*, sob orientação da Dra. Ana Sofia Silva.

A opção de fazer estágio em IF foi feita pelo meu interesse em trabalhar futuramente neste setor, nomeadamente na área da regulamentação, interesse este que nasceu depois de frequentar a unidade curricular Assuntos Regulamentares, lecionada no 2.º semestre do 4.º ano do MICF. A escolha da empresa foi feita com base na boa reputação da mesma, sendo já um símbolo da IF a nível nacional, e na acessibilidade à mesma, por se localizar em São Martinho do Bispo, Coimbra.

Por estas razões, a curiosidade em descobrir esta saída profissional e a expectativa que este estágio possibilitasse a aquisição de conhecimentos essenciais num futuro emprego, eram elevadas.

2. Bluepharma – Indústria Farmacêutica

A Bluepharma é uma empresa farmacêutica nacional, com sede em São Martinho do Bispo, Coimbra e foi criada em 2001, depois da compra da unidade industrial pertencente à multinacional alemã Bayer.

A sua atividade está assente na produção de medicamentos próprios e para terceiros; na investigação, desenvolvimento e registo de medicamentos; e na comercialização de medicamentos genéricos. Pelo que, a estratégia da empresa consiste no investimento em pessoas, instalações e equipamentos, na inovação, na internacionalização e na criação de parcerias nacionais e internacionais, sempre tendo como foco a qualidade dos seus produtos e serviços (Bluepharma, 2020a).

Desde o ano da sua criação, a Bluepharma tem alcançado várias conquistas ano após ano, sendo o seu mais recente projeto denominado “Bluepharma Acelera 2030” (Bluepharma, 2020b). Este projeto tem como objetivo a criação de novas instalações em Eiras, para a produção de medicamentos que incorporam substâncias ativas de elevada atividade farmacológica (HPAPI), bem como na implementação de tecnologias de última geração, no sentido de melhorar as técnicas e os processos de produção de medicamentos, sempre tendo em conta a promoção da eficiência energética. Este projeto será a forma da empresa efetivar todas as atividades de investigação e desenvolvimento feitas internamente ao longo dos seus anos. Além disso, reforçará a posição da Bluepharma, enquanto referência na Indústria Farmacêutica tanto a nível nacional como internacional (Bluepharma, 2020c).

3. Departamento de *Compliance*

O termo *Compliance* é um estrangeirismo que na sua origem inglesa significa “estar em conformidade com”. Este é, portanto, o conceito aplicado a todas as atividades que têm de estar em conformidade com normas legais e regulamentares, diretrizes e/ou políticas que sejam estabelecidas dentro de uma empresa ou instituição.

No caso de uma indústria farmacêutica, este conceito está diariamente presente e é particularmente relevante, uma vez que, associado aos medicamentos existem regulamentações e normas, nacionais e internacionais a serem cumpridas para a sua produção e comercialização (EMA, 2021a; FDA, 2021a).

Neste sentido, em 2020, a administração da Bluepharma considerou importante a reestruturação do organigrama da empresa, tendo sido assim criado um departamento independente dos departamentos de Assuntos Regulamentares e de Qualidade em que as suas

atividades fossem focadas no acompanhamento dos *dossiers* de AIM após a sua comercialização, no acompanhamento da atualização de documentação interna de cliente e no acompanhamento da codificação e nomenclatura de materiais, sendo através deste departamento feita a ponte entre a empresa, os clientes e as autoridades reguladoras, como a Food and Drug Administration (FDA) e a European Medicines Agency (EMA) (FDA, 2021b; EMA, 2021b).

Desta forma, o departamento iniciou atividade após a seleção de colaboradores que anteriormente faziam parte dos departamentos de Assuntos Regulamentares e de Qualidade do Produto e *Compliance*, sendo uma equipa que atualmente integra cerca de treze elementos. Estruturalmente, estão organizados em três subequipas, cada uma direcionada para as três diferentes atividades core do departamento.

Depois de integrar o departamento, fui direcionada para o grupo de *Compliance* do Produto, cujas atividades se focam na monitorização de CEPs e DMFs; no contacto com os clientes para manutenção de repositório de *dossier* de AIM; na atualização de secções de *dossier* de AIM e na preparação de pacotes de alteração regulamentar.

4. Atividades Desenvolvidas

Durante os três meses de estágio tive a oportunidade não só de acompanhar as atividades diárias dos colegas e obter uma visão geral de todas as tarefas incumbidas ao departamento, como também pude realizar algumas tarefas de forma independente.

As principais tarefas realizadas por mim estiveram relacionadas com a atualização de bases de dados usadas no dia-a-dia dos colaboradores da *Compliance* e de consulta útil a colaboradores de outros departamentos, e ainda com a recolha de informações regulamentares importantes estarem presentes e serem de conhecimento de toda a equipa. Mais concretamente, foi-me solicitado que atualizasse o ficheiro onde está reunida toda a informação que relaciona os clientes da Bluepharma, com o respetivo medicamento, fonte de API e CEP associado.

Outra tarefa que me foi atribuída foi a atualização da base de dados onde estão as informações das agências regulamentares dos diferentes países onde existem clientes da Bluepharma, nomeadamente as respetivas formas de submissão de alterações ao *dossier* de AIM e taxas associadas, assim como a sua posição quanto à caducidade da autorização de introdução no mercado em caso de não comercialização do produto.

Foi-me também solicitado que construísse uma nova base de dados relacionada com o Brexit e o seu impacto a nível regulamentar e comercial para a Bluepharma, enquanto

fabricante de produto acabado e responsável pela gestão de *dossiers* de AIM. Tive ainda oportunidade de dar apoio na construção de documentos administrativos para a submissão de alterações ao *dossier* de AIM, assim como de fazer a verificação de documentos provenientes de clientes com a informação presente na base de dados da empresa.

5. Análise SWOT

5.1. Pontos Fortes

5.1.1. Integração na equipa e no ambiente empresarial

O primeiro dia de estágio foi exclusivamente dedicado à apresentação da empresa e das equipas aos estagiários, tendo sido atribuído a cada um de nós um tutor, para que fizesse o acompanhamento e facilitasse a nossa integração no ambiente empresarial.

A integração na equipa de *Compliance* ocorreu também de forma fácil e rápida, uma vez que, apesar de ser uma equipa grande, com a qual não foi possível interagir fisicamente no seu todo, dada a condição sanitária pela qual o mundo atravessa atualmente, é uma equipa com espírito muito jovem e muito unida, sendo visível o bom ambiente de trabalho entre todos. Isto permitiu que eu me sentisse à vontade em questionar qualquer dúvida que surgisse, facilitando a minha aprendizagem e a realização das tarefas que me eram atribuídas.

5.1.2. Formação Interna

Desde o primeiro dia de estágio e ao longo da primeira semana, foram-nos disponibilizadas várias formações. Algumas eram carácter obrigatório e comuns a todos os novos colaboradores da Bluepharma, que visavam dar conhecimento sobre regras internas da empresa, nomeadamente sobre Ambiente, Saúde e Segurança no trabalho e Gestão de Qualidade, o que foi, no meu ver, da máxima importância para garantir a segurança e o bom funcionamento e ambiente da empresa.

Paralelamente, foram-me dadas formações pelos membros da equipa sobre temas diretamente relacionados com as funções do departamento, para facilitar a minha compreensão dos assuntos discutidos entre equipa e a realização das minhas tarefas.

5.1.3. Filosofia Kaizen

A Filosofia *Kaizen* é uma metodologia que defende a melhoria contínua e é aplicada no meio empresarial, de modo a promover a utilização de técnicas e ferramentas simples que

induzam melhorias principalmente a nível da produtividade, da eficácia, da segurança e da redução de desperdício (Kaizen Institute, 2021).

A adoção deste método é feita, geralmente, através da realização de reuniões diárias de equipa, para a criação de espaço de comunicação entre os membros da equipa, onde podem ser discutidas ideias, otimizados processos e ainda, onde podem ser discutidos problemas.

Na Bluepharma esta filosofia está bem implementada e é aplicada transversalmente a todos os departamentos, uma vez que todos eles podem ser alvo de melhorias.

No departamento de *Compliance*, as reuniões *Kaizen* realizavam-se diariamente por volta das 10h. Nestas reuniões havia a oportunidade de a equipa fazer todas as comunicações que considerasse pertinentes, permitindo que fosse feito um alinhamento das tarefas de cada um e que fossem discutidos dúvidas ou problemas.

Foi através da realização destas reuniões que pude conhecer, mesmo que de forma remota, todos os colegas da equipa e ter uma ideia mais alargada de todas as funções do departamento e das tarefas realizadas, nomeadamente, da equipa da documentação e da codificação, uma vez que integrei a equipa do Produto.

5.1.4. Autonomia e Flexibilidade

Um dos grande pontos positivos do meu estágio foi a liberdade e autonomia que me foi dada na realização das minhas tarefas. As tarefas que realizei eram-me solicitadas pelas colegas da equipa, em que primeiramente contextualizavam a necessidade da realização das mesmas e depois explicavam o objetivo e de que forma poderia ser feito. Depois disso, tinha oportunidade de gerir o meu tempo entre tarefas da forma que considerasse mais pertinente e importante.

5.1.5. Cantina/Subsídio de Alimentação

Outro aspeto, que não teve tido impacto direto na minha aprendizagem, mas que considero que valorizou muito a minha visão da Bluepharma enquanto entidade patronal, foi o facto de ter oferecido aos estagiários o direito ao subsídio de almoço, refletindo-se na oportunidade de frequentar a cantina nos dias desejados ou na utilização do correspondente valor das refeições, num cartão que nos foi fornecido e que podia ser usado em várias áreas comerciais.

Isto, não só mostra uma valorização dos estagiários, pondo-os de certa forma em igualdade com os restantes colaboradores, como foi uma mais-valia ter acesso à cantina e poder almoçar de forma rápida, evitando deslocações a casa.

5.2. Pontos Fracos

5.2.1. COVID-19

A pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2, impactou transversalmente o mundo e obrigou a uma reorganização de todos os setores e da vida quotidiana da população, nomeadamente a nível social, pelo que também a Bluepharma adotou as medidas necessárias para a melhor proteção dos seus colaboradores e para contribuir na minimização da propagação do vírus.

As principais regras impostas era uso de máscara obrigatório dentro das instalações, a limitação do número de pessoas nos espaços comuns e nos escritórios e o uso de separadores acrílicos nas mesas da cantina, tendo sido também imposto um regime misto entre trabalho presencial e teletrabalho nos departamentos em que assim fosse possível, como é o caso do de *Compliance*.

Sendo o objetivo de todas estas regras a restrição do contacto entre pessoas, a oportunidade de conhecer pessoalmente todos os colegas de equipa e interagir com outros colaboradores de outros departamentos foi muito limitada.

Além disso, esta pandemia obrigou o cancelamento das várias atividades e festividades que a Bluepharma tinha por hábito dinamizar com os seus colaboradores, inclusive, durante o meu tempo de estágio, devido às frequentes variações dos números de casos do país e alterações de regras, houve a necessidade de cancelar a atividade de verão *BlueFun*, na qual estava inscrita.

5.2.2. Diferentes departamentos

Dado que um farmacêutico, pela sua vasta formação, tem a possibilidade de integrar diferentes tipos de funções, nos diferentes departamentos de uma indústria farmacêutica, seria uma mais-valia e muito enriquecedor para um estudante estagiário na iminência de integrar o mercado de trabalho, ter a oportunidade de passar por mais do que um departamento, no sentido de lhe ser facultada a hipótese de conhecer diferentes áreas e, assim, perceber de forma mais clara a área pela qual tem maior interesse.

5.3. Oportunidades

5.3.1. Aprofundar conhecimentos

A realização deste estágio, não só permitiu a aplicação de diversos conhecimentos adquiridos na unidade curricular Assuntos Regulamentares e a posta em prática dos mesmos,

como ofereceu-me uma visão muito mais alargada das tarefas associadas a esta área. Particularmente, permitiu-me perceber o impacto das funções deste departamento numa IF, já que é um departamento que se relaciona proximamente e diariamente com outros departamentos da empresa, como é o caso da Unidade Industrial e da Gestão da Qualidade e ainda com clientes e autoridades competentes.

5.3.2. Contacto com entidades reguladoras

Algumas das tarefas que realizei estavam diretamente relacionadas com as regulamentações das diferentes agências reguladoras dos diferentes países do mundo, pelo que em certos momentos tive a necessidade de entrar em contacto diretamente com essas entidades regulamentares.

Além de me ter possibilitado conhecer mais sobre as diferentes regulamentações e exigências dos diferentes países, permitiu-me treinar a minha abordagem a entidades terceiras.

5.3.3. Teletrabalho

O teletrabalho passou a ser uma nova realidade para muitos trabalhadores em todo o mundo, imposta com o objetivo de reduzir contactos entre pessoas e deslocações, na sequência da atual pandemia.

Quando integrei a Bluepharma, o teletrabalho acontecia rotativamente na equipa, pelo que durante os primeiros dois meses, ia às instalações da empresa cerca de duas vezes por semana. No último mês, foi imposto preventivamente teletrabalho a 100% a todos os departamentos em que assim é possível, devido ao facto de terem surgido alguns casos positivos entre colaboradores da empresa e pela pioria no número de casos a nível nacional.

Considero que ter tido um regime misto foi uma mais-valia, pois tanto tive oportunidade de conhecer as instalações e o dia-a-dia do ambiente empresarial, como tive oportunidade de trabalhar a partir de casa, o que facilitava devido às longas deslocações que tinha de fazer até às instalações da Bluepharma e, ainda, tive oportunidade de me familiarizar com a ferramenta Microsoft Teams com a qual não tinha trabalhado até então.

5.4. Ameaças

5.4.1. Sobrecarga de atividades

Sendo a *Compliance* um departamento responsável por fazer cumprir todas as normas e regulamentações de forma a garantir a maior qualidade e segurança dos produtos

produzidos, e que isso depende de todos os departamentos da empresa, há a necessidade que exista um bom alinhamento de todas as atividades de cada departamento e ainda com as próprias autoridades regulamentares. Isto requer da equipa de *Compliance* uma capacidade de resposta e um envolvimento nas diferentes atividades da empresa muito grande, refletindo-se numa elevada carga de tarefas e reuniões.

Isto foi perfeitamente visível não só no dia-a-dia, pelo elevado número de reuniões em que os colegas participavam, como se verificou nas realizações das minhas atividades, nomeadamente, nas que exigiam a colaboração dos colegas de equipa e em que a sua resposta era demorada, dada ao grau de importância de outras tarefas da sua responsabilidade.

6. Considerações Finais

Desde o início do curso é transmitido aos alunos do MICF que um farmacêutico pode integrar vários setores distintos, nomeadamente Farmácia Comunitária, Farmácia Hospitalar, Análises Clínicas e Indústria Farmacêutica, no entanto, é difícil para o alunos criar uma imagem concreta das funções que um farmacêutico pode executar, nomeadamente, no que diz respeito à IF, uma vez que é a área à qual se tem menor acesso. De facto, geralmente, o pensamento é de que dentro da IF, um farmacêutico está limitado aos departamentos de Controlo de Qualidade e Desenvolvimento Galénico, ou seja, às funções laboratoriais. Só nos últimos anos de curso, com a frequência às cadeiras mais administrativas como Assuntos Regulamentares, Garantia de Qualidade e Marketing é que é alargada a visão do leque de oportunidades aos alunos.

A possibilidade de realizar estágio curricular em mais do que uma área é, portanto, a oportunidade de os alunos conhecerem mais do que Farmácia Comunitária e de entrarem em contacto direto com as funções de um farmacêutico, que lhes são desconhecidas até então.

A realização do estágio na Bluepharma era, para mim, uma oportunidade muito desejada, pelo facto de ser a forma de conhecer o meio empresarial/industrial e de conhecer na prática a área regulamentar, saída profissional que desejo seguir no futuro.

Findo o período de estágio, é-me possível afirmar que esta experiência excedeu as minhas expectativas, uma vez que me permitiu, não só aprofundar os conhecimentos teóricos adquiridos no MICF, como possibilitou a aquisição de novos conhecimentos e competências, enriquecendo em muito o meu futuro profissional e abrindo portas ao mercado de trabalho nesta área. Além disso, pude adquirir uma visão do ambiente empresarial muito positiva, contribuindo para o meu interesse em fazer parte de um grupo familiar como é a Bluepharma enquanto empresa.

Assim sendo, termino agradecendo novamente à Bluepharma, em particular ao departamento de *Compliance* e à equipa que integrei, por todo o acompanhamento prestado e conhecimentos transmitidos, e com certezas de que o meu futuro profissional passará por uma Indústria Farmacêutica como é a Bluepharma.

7. Referências Bibliográficas

BLUEPHARMA - Bluepharma Acelera 2030, 2020c. [Acedido a 26/08/2021]; Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/P2020-Acelera2030.php>

BLUEPHARMA - História, 2020b. [Acedido a 26/08/2021]; Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/about-history.php>

BLUEPHARMA - Missão, Visão e Valores, 2020a. [Acedido a 26/08/2021]; Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/about-mvv.php>

EMA - European Medicines Agency, 2021b. [Acedido a 02/09/2021]; Disponível em: <http://www.ema.europa.eu/ema/>

EMA - European Medicines Agency - Compliance: Overview, 2021a. [Acedido a 2/09/2021]. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/compliance-overview>

FDA - Food and Drug Administration, 2021b. [Acedido a 02/09/2021]; Disponível em: <https://www.fda.gov/>

FDA - Food and Drug Administration. Office of Compliance, 2021a. [Acedido a 02/09/2021]. Disponível em: <https://www.fda.gov/about-fda/center-drug-evaluation-and-research-cder/office-compliance>

Kaizen Institute - Definition of KAIZEN™, 2021. [Acedido a 02/09/2021]; Disponível em: https://www.kaizen.com/what-is-kaizen.html#definition_kaizen

PARTE III

Monografia

O Uso Terapêutico do Pólen de Abelha na Perturbação do Espectro do Autismo

Sob orientação do Professor Doutor António Henrique Silva Paranhos

Resumo

A Perturbação do Espectro do Autismo (PEA) é uma perturbação do neurodesenvolvimento caracterizada por comportamentos e interesses repetitivos/restritos e dificuldades na comunicação, assim como, na interação social. Associado a estes principais sintomas, doentes com PEA apresentam normalmente outro tipo de patologias como depressão, ansiedade e disfunções gastrointestinais. É uma doença que integra vários mecanismos patológicos como excitotoxicidade do glutamato, stress oxidativo e neuroinflamação e para a qual ainda não existe nem cura nem tratamento direcionado para os sintomas principais.

Uma solução terapêutica que tem vindo a ser estudada é o pólen de abelha, uma vez que é um produto natural com uma rica composição em constituintes bioativos e cujas propriedades terapêuticas antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana e destoxicante, têm mostrado grande potencial em atuar nos vários mecanismos inerentes à PEA.

Ainda assim, é uma área que requer mais estudos, já que os dados existentes até aos dias de hoje baseiam-se em estudos pré-clínicos e continua a existir a necessidade dar resposta a todas as questões relacionadas com a uniformização da composição do pólen.

A presente monografia pretende sintetizar a informação existente na literatura sobre o que é a Perturbação do Espectro do Autismo e sobre as propriedades terapêuticas do pólen e fazer uma revisão dos trabalhos nos quais foi estudado o efeito do pólen de abelha em modelos animais de PEA, com o objetivo de mostrar a potencialidade desta solução terapêutica.

Palavras-chave: Perturbação do Espectro do Autismo, Pólen de abelha, Excitotoxicidade do Glutamato, Stress Oxidativo, Neuroinflamação, Atividades Terapêuticas.

Abstract

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental disorder characterized by repetitive/restricted behaviors and interests and difficulties in communication, as well as in social interaction. Associated with these main symptoms, patients with ASD usually have other types of pathologies such as depression, anxiety and gastrointestinal disorders. It is a disease that integrates several pathological mechanisms such as glutamate excitotoxicity, oxidative stress and neuroinflammation, and for which there is still no cure or treatment aimed at the main symptoms.

A therapeutic solution that has been studied is bee pollen, since it is a natural product with a rich composition in bioactive constituents and whose therapeutic antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial and detoxifying properties have shown great potential in acting on several mechanisms inherent to the PEA.

Even so, it is an area that requires further studies, as the data available to date are based on pre-clinical studies and there is still a need to answer all questions related to the uniformity of pollen composition.

This monograph aims to synthesize the information in the literature about what Autism Spectrum Disorder is and the therapeutic properties of pollen and to review the studies in which the effect of bee pollen in animal models of ASD was studied, with the aim of showing the potential of this therapeutic solution.

Keywords: Autism Spectrum Disorder, Bee Pollen, Glutamate Excitotoxicity, Oxidative Stress, Neuroinflammation, Therapeutic Activities.

Lista de Siglas e Acrónimos

5-HT: Serotonina

ALP: Fosfatase Alcalina

ALT: Alanina Aminotransferase

AP: Ácido Propiônico

APA: American Psychiatry Association

AST: Aspartato Aminotransferase

DA: Dopamina

DSM: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders

EMA: European Medicines Agency

FDA: Food and Drug Administration

GABA: Ácido Gama-Aminobutírico

GGT: Gama-Glutamiltransferase

GM-CSF: Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor

GS: Glutamina Sintetase

GSH: Glutationa

GST: Glutationa S-Transferase

IFN- γ : Interferon- γ

IL-6: Interleucina 6

IL-8: Interleucina 8

iNOS: Inducible Nitric Oxide Synthase

ISO: International Organization for Standardization

NA: Noradrenalina

NF- κ B: Nuclear Factor Kappa B

NT: Neurotransmissor

OMS: Organização Mundial de Saúde

PEA: Perturbação do Espectro do Autismo

PGD: Perturbações Globais do Desenvolvimento

ROS: Reactive Oxygen Species

TNF- α : Tumor Necrosis Factor-Alpha

I. Introdução

A Perturbação do Espectro do Autismo (PEA) é definida como uma perturbação do neurodesenvolvimento caracterizada por comportamentos e interesses repetitivos/restritos e dificuldades na comunicação, assim como, na interação social, começando os sinais mais evidentes da doença a manifestar-se a partir dos 3 anos.

A prevalência da PEA tem vindo a aumentar, sendo que, segundo os últimos dados do *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) de 2016, 18,5 em cada 1000 crianças (1 em cada 54 crianças) com idade até aos 8 anos têm PEA, verificando-se, ainda, que esta é 4 vezes mais comum em rapazes do que em raparigas (Maenner *et al.*, 2020).

Devido a este aumento de casos e à ainda pouca clareza que há em relação às causas desta doença, a comunidade científica tem-se dedicado a estudá-la, não só quanto à sua etiologia, mas também quanto ao seu diagnóstico e às formas terapêuticas mais adequadas e eficazes.

Atualmente, esta doença não tem cura, pelo que as intervenções têm como principal objetivo a redução de sintomas e o desenvolvimento e melhoria das capacidades de execução de tarefas quotidianas e de socialização. Estas intervenções passam nomeadamente, pelo recurso às terapias ocupacionais e de desenvolvimento cognitivo, à alimentação e à medicação.

Em relação às formas de tratamento farmacológicas, não existe também ainda nenhum fármaco que esteja direcionado aos sintomas principais da doença. O que tem sido adotado pela comunidade médica é o recurso a grupos farmacológicos como antidepressivos, ansiolíticos e anticonvulsivantes, para tratar outros sintomas que estão muitas vezes associados a esta doença, como ansiedade, depressão e hiperatividade.

No entanto, dado aos efeitos secundários destes tipos de fármacos, à complexidade da envolvente patológica da doença e à crescente preocupação da população em recorrer a constituintes mais naturais, têm sido feitos estudos ao pólen de abelha como potencial terapêutico na PEA, devido ao seu efeito anti-inflamatório, antioxidante, antibacteriano, destoxicante e como alimento completo e funcional.

Na presente monografia será feita uma breve contextualização da doença que é a Perturbação do Espectro do Autismo e das propriedades do pólen de abelha com o objetivo de demonstrar a potencialidade deste produto como terapêutica nesta doença.

2. A Doença

2.1. Evolução da definição

A designação “autismo” foi utilizada em 1943 pelo psiquiatra Leo Kanner para descrever as perturbações comportamentais que observou num grupo de 11 crianças entre os 2 e os 11 anos. Essas perturbações incluíam pouco interesse pelo ambiente ao seu redor e por atividades sociais, preferindo estar a sós maior parte do seu tempo, dificuldade em comunicar e comportamentos e frases repetitivos. Foi nesta publicação que foi feita a primeira referência do autismo como sendo uma doença, diferente da esquizofrenia, com a qual eram diagnosticadas até então muitas das crianças com estas características (Kanner, 1943).

Em 1944, Hans Asperger publicou por sua vez um trabalho que envolveu um grupo de crianças com idades superiores ao grupo de Kanner, no qual observou também um certo isolamento social, no entanto, sem atrasos significativos na linguagem, pelo que poderia ser considerada uma variante menos grave do autismo (Asperger, 1991).

A definição de autismo e os critérios para o seu diagnóstico foram sofrendo alterações ao longo dos anos, segundo o *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM) da *American Psychiatry Association* (APA).

No DSM-IV foi criada a categoria “Perturbações Globais do Desenvolvimento” (PGD) onde se incluíam cinco tipos de perturbações entre as quais a Síndrome de Asperger, a Perturbação Autística, a Perturbação Global do Desenvolvimento Sem Outra Especificação, a Perturbação de Rett e a Perturbação Desintegrativa da Segunda Infância.

A classificação mais recente surgiu em 2013, na quinta edição do DSM, com a alteração da denominação desta categoria para “Perturbação do Espectro do Autismo”, dada a variedade de sintomas, desde formas mais leves às formas mais graves (Volkmar, Reichow e McPartland, 2012).

2.2. Etiologia

A etiologia desta doença ainda não é totalmente conhecida, no entanto, o que se pensa atualmente é que a causa terá origem na integração de um conjunto de fatores genéticos, epigenéticos e ambientais. Pensa-se que a complexidade e diversidade das manifestações da PEA é devida à expressão de genes predisponentes da doença juntamente com a expressão modificada de outros genes, induzidas por exposição tanto pré como pós-natal a fatores ambientais (Al-Dewik *et al.*, 2020; Bhandari *et al.*, 2020a).

2.2.1. Fatores Genéticos

A primeira evidência de que esta doença tem uma componente genética ocorreu em 1970, quando foram diagnosticadas duas crianças gémeas com o mesmo tipo de perturbação comportamental (Treffert, 1970).

Em 2019, foi feito um estudo que envolveu 2 001 631 pessoas de 5 países diferentes, com o qual se concluiu que o maior risco de desenvolver PEA provem de fatores genéticos, estando a sua hereditabilidade estimada em 80% (Bai *et al.*, 2019).

O trabalho de revisão de Sharma, Gonda e Tarazi (2018) feito entre irmãos gémeos monozigóticos, permitiu perceber que se um deles apresentar PEA, a probabilidade do outro também ter é de cerca de 36 a 95%, enquanto que entre irmãos gémeos dizigóticos essa probabilidade baixa para 0 a 30%. No caso de irmãos não gémeos, o risco de um irmão de uma criança com PEA desenvolver também a doença, cai para 2 a 8% (Hallmayer *et al.*, 2015; Rosenberg *et al.*, 2009).

Muitas investigações têm sido feitas para compreender melhor a responsabilidade da genética no fenótipo desta doença e na sua transmissão de geração em geração, nomeadamente pela tentativa de identificar os genes em causa.

O que se sabe até hoje é que a influência tanto pode ser mono como poligenética e que as mutações ocorrerão em genes relacionados com a formação, a plasticidade e a transmissão sináptica (Al-Dewik *et al.*, 2020; Bhandari *et al.*, 2020a).

2.2.2. Epigenética e Fatores Ambientais

Os números apresentados anteriormente mostram que a causa genética, apesar da sua grande influência, não é o único fator para o aparecimento da doença. E de facto, a exposição a fatores ambientais por si só ou associada a modificações epigenéticas têm um papel preponderante.

A epigenética está associada aos fatores ambientais na medida em que a exposição a certos fatores externos pode induzir mecanismos de modificação genética, como a metilação do DNA e a modificação pós-tradução das histonas em genes, que podem conduzir à sua deficiente expressão e ter impacto no normal funcionamento do organismo, nomeadamente, se forem genes codificantes da plasticidade e transmissão sináptica, no caso da PEA.

No entanto, a exposição pré ou pós-natal a compostos tóxicos ou até mesmo infeções virais ou bacterianas podem também impactar nos mecanismos neuronais normais ou no sistema imune, aumentando os níveis de fatores pró-inflamatórios, o que está também ligado à fisiopatologia da PEA.

O grau de gravidade dos danos provocados e da manifestação do fenótipo não dependem apenas da exposição, mas também da duração dessa exposição e do estadio de desenvolvimento do feto no momento dela, já que o cérebro não se desenvolve todo ao mesmo tempo e as modificações provocadas terão repercussões diferentes consoante esse nível de desenvolvimento (Al-Dewik *et al.*, 2020; Bhandari *et al.*, 2020a; Sharma, Gonda e Tarazi, 2018).

2.3. Neurobiologia da PEA

A complexidade da PEA está relacionada com a complexidade e a interligação de vários mecanismos que culminam com diminuição da atividade sináptica, neurotoxicidade e até apoptose. Os mecanismos identificados até hoje envolvem a excitotoxicidade do glutamato, stress oxidativo e ativação da microglia e dos astrócitos, associado ainda a distúrbios imunológicos.

A excitotoxicidade do glutamato é causada por uma disfunção das vias de sinalização, nomeadamente, a superestimulação dos recetores de glutamato em conjunto com a ativação da microglia. O glutamato é um neurotransmissor excitatório, responsável pela despolarização pós-sináptica e respetiva propagação de potenciais de ação e está envolvido nos processos de aprendizagem e memória. É sintetizado nos neurónios e libertado na fenda sináptica onde sofre recaptação pelas células da glia. Estas transformam o glutamato em glutamina através da glutamina sintetase (GS), que depois é captada pelos neurónios, onde volta a ser transformada em glutamato através da enzima glutaminase. Por sua vez, o GABA é o neurotransmissor inibitório responsável pelo efeito contrário, ou seja, a hiperpolarização da membrana pós-sináptica e deriva do glutamato por via da enzima glutamato descarboxilase. No normal funcionamento cerebral, o glutamato é metabolizado nos astrócitos preferencialmente pela glutamato sintetase, transformando-o em glutamina, do que pela glutamato descarboxilase.

O balanço entre estes neurotransmissores excitatórios e inibitórios é essencial, estando a alteração desse balanço associada a várias doenças, entre as quais as perturbações associadas ao autismo. Existem já vários estudos que comprovam a presença de níveis aumentados de glutamato e diminuição dos níveis de GABA e glutamina em crianças diagnosticadas com PEA (Aabed *et al.*, 2019; El-Ansary *et al.*, 2017).

A ativação da microglia, além de aumentar a libertação de mediadores pró-inflamatórios e citocinas como IL-6, IL-8, TNF- α , IFN- γ , NF-kB e GM-CSF, que resulta em neuroinflamação, leva também ao aumento da produção de iNOS e de espécies reativas de oxigénio (ROS), o que provoca aumento de stress oxidativo. Por outro lado, as próprias ROS

têm ação sobre a ativação das células da glia, havendo assim um mecanismo de feedback positivo (Bhandari *et al.*, 2020a, 2020b; Manivasagam *et al.*, 2020).

Em paralelo, alguns destes mediadores pró-inflamatórios têm a capacidade de induzir a ativação das caspases, que são uma família de proteases responsáveis pela apoptose celular, tendo grande impacto na morte neuronal durante o desenvolvimento do cérebro (Al-Salem *et al.*, 2016).

Além disto, sabe-se também que as células da glia são responsáveis pelo *pruning* sináptico, isto é, pelo corte no número de sinapses que ocorre normalmente a partir dos 3 anos de idade e que existe uma maior ativação destas células nos pacientes diagnosticados com PEA, daí a manifestação da doença ser mais evidente a partir dessa idade (Bhandari *et al.*, 2020^a).

Em suma, existe uma integração de vários mecanismos disfuncionais que conduzem a excitotoxicidade, neuroinflamação, *stress* oxidativo e morte neuronal, processos estes responsáveis pela alteração da plasticidade sináptica e pelas mudanças comportamentais associadas à PEA (Abed *et al.*, 2019; El-Ansary *et al.*, 2017).

2.4. Ferramentas e Critérios de Diagnóstico

Dado as inúmeras variantes que pode apresentar, a caracterização desta doença torna-se mais difícil e complexa, necessitando de uma observação e acompanhamento personalizado de forma a permitir uma gestão clínica o mais adequada possível a cada paciente.

Para se fazer um correto diagnóstico foram criadas várias ferramentas e escalas, que incluem geralmente questionários, entrevista aos pais ou cuidadores da criança, entrevista direta ao doente, observação do mesmo e revisão do histórico familiar em relação à presença de casos de PEA.

Segundo Sharma e colaboradores (Sharma, Gonda e Tarazi, 2018) as escalas mais utilizadas são:

- *The Autism Diagnostic Interview-Revised* (ADI-R) (Lord, Rutter e Couteur, Le, 1994).
- *The Autism Diagnostic Observation Schedule-Second Edition* (ADOS-2) (McCrimmon e Rostad, 2014).
- *Childhood Autism Rating Scale-Second Edition* (CARS-2) (Sharma, Gonda e Tarazi, 2018).
- *The Diagnostic Interview for Social and Communication Disorders* (DISCO); (Wing *et al.*, 2002).

- *Gilliam Autism Rating Scale – Second Edition (GARS-2)*; (Montgomery, Newton e Smith, 2008).
- *The Developmental, Dimensional, and Diagnostic Interview (3Di)*; (Skuse et al., 2004).

Numa avaliação podem ser usadas várias destas ferramentas, de modo a garantir que a análise feita é o mais completa possível e que os dados recolhidos permitam fazer o correto diagnóstico, sempre tendo em conta, também, o julgamento individual do clínico, que é crucial, uma vez que cada caso é diferente e deve ser abordado sempre de forma única e personalizada.

Em relação aos critérios de diagnóstico existem 2 fontes de duas entidades distintas, mas ambas centradas na comunicação e interação social atípica e nos padrões repetitivos e restritos de comportamento, atividades e interesses.

Publicados pela *American Psychiatric Association* existem os critérios do DSM-V e, publicado pela Organização Mundial de Saúde, existe o ICD (*International Classification of Diseases*), estando atualmente em vigor a 10ª revisão que será substituída em 2022. A nova revisão já apresentará critérios mais semelhantes aos da DSM-V, nomeadamente no que diz respeito ao agrupamento dos diferentes subtipos de autismo na classificação única de “espectro” que estavam antigamente divididos (Al-Dewik et al., 2020; Shaltout et al., 2020).

Segundo os critérios da DSM-V, a PEA é diagnosticada quando todos os 5 critérios *major* seguintes são identificados numa criança (CDC, 2020):

- A. Défices persistentes na comunicação e interação social em vários contextos.
- B. Padrões de comportamento, interesses e atividades repetitivos e restritos, manifestados por pelos menos dois dos exemplos seguintes:
 1. Movimentos motores estereotipados ou repetitivos, uso de objetos ou fala (ex. estereotipias motoras simples, alinhar brinquedos ou lançar objetos, ecolalia, frases idiossincráticas).
 2. Insistência na mesmice, adesão inflexível a rotinas ou padrões ritualizados ou comportamento verbal não-verbal (por exemplo, angústia extrema em pequenas mudanças, dificuldades com transições, padrões de pensamento rígidos, rituais de saudação, necessidade de seguir o mesmo caminho ou comer comida todos os dias).
 3. Altamente restrito, interesses fixos que são anormais em intensidade ou foco (por exemplo, forte apego ou preocupação com objetos incomuns, interesse excessivamente circunscrito ou perseverativo).

4. Hiper ou hipo-reatividade à entrada sensorial ou interesses incomuns em aspetos sensoriais do ambiente (por exemplo, indiferença aparente à dor / temperatura, resposta adversa a sons ou texturas específicas, cheiro ou toque excessivo de objetos, fascinação visual por luzes ou movimento).
- C. Os sintomas devem apresentar-se no início do período do desenvolvimento (mas podem não se manifestar totalmente até que as demandas sociais excedam as capacidades limitadas ou podem ser mascaradas por estratégias aprendidas mais tarde ao longo da vida.
- D. Os sintomas causam prejuízo clinicamente significativo no funcionamento social, ocupacional ou em outras áreas importantes do funcionamento atual.
- E. Os distúrbios não são mais bem explicados por deficiência intelectual (transtorno de desenvolvimento intelectual) ou atraso global de desenvolvimento. A deficiência intelectual e a perturbação do espectro do autismo ocorrem frequentemente simultaneamente; para fazer diagnósticos da comorbilidade da perturbação do espectro do autismo e deficiência intelectual, a comunicação social deve estar abaixo do esperado para o nível de desenvolvimento geral.

Para os grupos diagnósticos A e B, é necessário especificar e categorizar a gravidade dos sintomas em três níveis com base em deficiências de comunicação social e padrões de comportamento repetitivos e restritos. Considerando o efeito do plano de tratamento, os médicos também devem especificar se o distúrbio é:

- Com ou sem comprometimento intelectual;
- Com ou sem comprometimento de linguagem;
- Associado a uma condição médica ou genética conhecida ou fator ambiental;
- Associado a outro transtorno do neurodesenvolvimento, mental ou comportamental;
- Com catatonia.

2.5. Comorbilidades associadas à PEA

Além de todas as alterações presentes no cérebro referidas anteriormente, as crianças diagnosticadas com esta doença, apresentam na maioria dos casos, concomitantemente, outro tipo de perturbações tanto a nível psicológico como fisiológico, que agravam a manifestação da doença e o estado de saúde destes pacientes.

A nível psicológico, é muito frequente que crianças com PEA apresentem também depressão, bipolaridade, ansiedade, transtorno obsessivo-compulsivo e perturbação de

hiperatividade/défice de atenção (PHDA). Estas patologias podem agravar muito a condição da criança e persistir na adolescência e vida adulta, pelo que o seu diagnóstico e tratamento precoce se torna de extrema importância (Shaltout *et al.*, 2020; Sharma, Gonda e Tarazi, 2018).

A nível fisiológico, está já identificada a existência de uma relação entre a presença desta doença e inflamação crónica, défice na capacidade de destoxificação hepática, o que se traduz num agravamento do stress oxidativo, e desregulação da microbiota, o que se pensa ter grande influência a nível neuronal, já que existem evidências da existência de comunicação bidirecional entre a microbiota, o intestino e o cérebro. Muitos estudos têm sido feitos no sentido de perceber de que forma este eixo microbiota-intestino-cérebro está alterado em pacientes com PEA e de que forma uma intervenção na regulação da flora intestinal, através do recurso a probióticos e fruto-oligossacarídeos, podem melhorar os sintomas e manifestação desta doença. Segundo o trabalho de revisão de Ho *et al.* (2020), apesar de ainda não ser possível identificar um padrão de alteração da composição da microbiota, sabe-se que, de facto, alguns géneros de bactérias como *Bifidobacterium*, conhecido como probiótico, estão normalmente em níveis diminuídos e, por sua vez, bactérias do género *Clostridium*, que são responsáveis pela produção de ácido propiónico, composto com efeitos neurotóxicos e capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, aparecem frequentemente em níveis aumentados em pacientes com PEA (Hartman e Patel, 2020; Bhandari, 2020b).

2.6. Esquemas Terapêuticos Atuais

Ainda não existe nem cura nem tratamento específico para os sintomas core da PEA, pelo que, atualmente a terapêutica destas crianças passa por terapias não farmacológicas que estimulem o desenvolvimento da fala e das competências sociais, como terapia ocupacional, terapia da fala, ensino especial e psicologia educacional.

A terapêutica farmacológica utilizada está direcionada aos sintomas relacionados com as comorbilidades geralmente presentes nestes doentes e que inclui antidepressivos, psicotrópicos atípicos, agonistas dos recetores α -2-adrenérgicos, anticonvulsivantes e inibidores da colinesterase. O uso destes medicamentos é normalmente feito *off-label*, uma vez que os estudos clínicos direcionados a este grupo de doentes são escassos, sendo que atualmente autorizados pela *Food and Drug Administration* (FDA) estão apenas o Aripiprazol e a Risperidona, ambos com indicação para a agitação e irritabilidade ligada à PEA. Já a Agência do Medicamento Europeia (EMA) tem autorizado apenas o Haloperidol para a agressão severa e persistente em crianças e adolescentes com PEA em que outros tratamentos não foram

eficazes ou que causaram efeitos secundários graves (Eissa *et al.*, 2018; Fuentes, Hervás e Howlin, 2021; Shaltout *et al.*, 2020; Venkatesan, 2020).

Todos os métodos e esquemas de tratamento adotados devem ser aplicados caso a caso, após uma avaliação clínica personalizada rigorosa, dada a imparidade da situação clínica de cada doente, nomeadamente, no que diz respeito ao tratamento farmacológico, uma vez que as classes farmacológicas mencionadas estão associadas a efeitos secundários e a sua administração em crianças é controversa devido à falta de estudos clínicos (Sharma, Gonda e Tarazi, 2018).

3. O Pólen

Existem registos da utilização do pólen de abelha como produto terapêutico e nutricional de há muitos milhares de anos, fazendo parte da medicina tradicional em muitos locais do mundo. Esses registos evidenciam a versatilidade deste produto, mostrando ter grande potencial em vários tipos de patologias, sendo já até reconhecido oficialmente como medicamento na Alemanha. No entanto, a falta de provas clínicas mais robustas tem impedido que esse reconhecimento seja global e que seja utilizado na prática clínica corrente (Li *et al.*, 2018).

3.1. Caracterização

O pólen de abelha é produzido pelas abelhas a partir da aglutinação dos grãos de pólen das flores que colhem e secreções orais que produzem, formando grãos que rondam os 2,5 a 250 μm , que depois transportam para a colmeia (Kieliszek *et al.*, 2018; Komosinska-Vassev *et al.*, 2015). Estes grãos podem ser constituídos por pólen de apenas um tipo ou de vários tipos de flor e dependendo da espécie de flor da qual as abelhas colhem o pólen, os grãos podem ter vários tipos de forma, cor, tamanho e peso.

A colheita dos grãos de pólen por parte dos apicultores é feita através da colocação de uma armadilha à entrada da colmeia, pela qual, as abelhas ao passar, deixam cair o grão de pólen que trazem agarrado aos seus membros inferiores (Li *et al.*, 2018).

3.2. Composição

Está descrito que o pólen de abelha contém mais de 200 constituintes, variando nomeadamente na sua quantidade consoante a espécie de planta, a espécie de abelha, a região geográfica e até o clima e estação do ano (Gardana *et al.*, 2018).

A nível da composição qualitativa, os principais constituintes do pólen são (Kieliszek *et al.*, 2018; Mărgăoan *et al.*, 2019):

1. Hidratos de carbono

- Frutose, Glucose, Sacarose
- Oligossacarídeos
- Polissacarídeos

2. Proteínas e aminoácidos

- Metionina, Lisina, Treonina, Histidina, Leucina, Isoleucina, Valina, Fenilalanina e Triptofano

3. Lípidos
 - Ácidos gordos saturados (Ácido Palmítico)
 - Ácidos gordos insaturados (Ácido Linolénico, Ácido Oleico, Ácido Linoleico, Ácido Araquidónico)
 - Fosfolípidos
 - Fitoesteróis
4. Vitaminas (nomeadamente dos grupos B, A, E e C)
5. Minerais (Potássio, Cálcio, Sódio, Magnésio, Fósforo, Zinco, Ferro, Cobre e Manganês)
6. Compostos fenólicos
 - Flavonoides (Quercetina, Isorhamnetina, Naringenina, Hesperetina, Kaempferol, Catequina, Epicatequina, Luteolina, Apigenina)
 - Ácidos Fenólicos (Ácido Gálico, Ácido Ferrúlico, Ácido Cafeico, Ácido Vanílico, Ácido Benzóico, Ácido Clorogénico)
7. Ácidos nucleicos
8. Carotenoides (β -Caroteno, Luteína, β - Criptoxantina)
9. Enzimas provenientes das secreções das abelhas

Tabela 1. Composição química e quantificação dos constituintes.

Composição Química	Quantidade (g/100g pólen seco)	Referências
Hidratos de Carbono	13 - 60	(Li <i>et al.</i> , 2018) (Kieliszek <i>et al.</i> , 2018) (Denisow e Denisow-Pietrzyk, 2016) (Mărgăoan <i>et al.</i> , 2019) (Komosinska-Vassev <i>et al.</i> , 2015) (Szabat <i>et al.</i> , 2019) (Denisow e Denisow-Pietrzyk, 2016)
Proteína	5 - 60	
Lípidos	1 - 20	
Vitaminas	0,02 - 0,7	
Minerais	3 - 8	
Compostos Fenólicos	0,2 - 8	
Ácidos nucleicos	0,6 - 4,8	
Carotenoides	< 0,07	

O estudo do pólen quanto à sua composição em flavonoides e ácidos fenólicos permite a identificação das espécies de plantas das quais tem origem, uma vez que o perfil destes compostos é um marcador de espécie. Sabendo isto, muitas investigações têm sido feitas ao pólen de abelha para identificar as espécies de plantas do qual provêm e a literatura existente até hoje é bastante uniforme no que diz respeito à variedade de plantas, permitindo concluir que as abelhas são bastante seletivas quanto às plantas das quais colhem e formam o pólen (Campos *et al.*, 2010).

3.3. Propriedades

Dada a variada e rica composição do pólen, este apresenta várias propriedades, entre as quais as atividades antioxidante, antibacteriana, anti-inflamatória e anticancerígena. Estas propriedades estão diretamente relacionadas com a composição química, pelo que diferentes tipos de pólen, de diferentes origens, apresentarão propriedades predominantes diferentes (Szabat *et al.*, 2019). Além disso, é considerado um produto com alto valor nutricional e completo, apresentando grande potencial como suplemento alimentar (Kieliszek *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2018).

3.3.1. Atividades antibacteriana e antifúngica

Existem vários estudos feitos a extratos alcoólicos de pólen que evidenciam uma potente atividade contra bactérias, nomeadamente *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e até contra fungos como *Candida albicans*. Esta propriedade está atribuída à possível presença e atividade da glucose oxidase que provém das secreções das abelhas e à presença dos flavonoides e ácidos fenólicos, que têm a capacidade de degradar a membrana do citoplasma, conduzindo à perda de iões potássio e assim à lise celular.

Relacionada com estas duas propriedades, o pólen também tem sido apresentado como um bom pré-biótico, devido à composição em oligossacarídeos, o que tem impacto positivo na regulação da flora intestinal (Campos *et al.*, 2010; Denisow e Denisow-Pietrzyk, 2016; Komosinska-Vassev *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2018).

3.3.2. Atividade anticancerígena

Está bem documentado o contributo do pólen na redução da proliferação de células cancerígenas e na inibição do crescimento de tumores, por aumento da atividade do grupo de enzimas caspase-3 e diminuição da expressão de proteínas antiapoptóticas.

Atualmente já são vários os tipos de cancro e tumores sobre os quais o pólen de abelha apresenta ter efeito terapêutico positivo, no entanto, as primeiras evidências e sobre os quais existem mais estudos são os da próstata, tendo sido já reportados bons resultados no tratamento com pólen de pacientes com hiperplasia da próstata. Esta propriedade, muito ligada também à capacidade antioxidante, está principalmente associada à presença de fitoesteróis, ácidos gordos e compostos fenólicos (Li *et al.*, 2018; Rzepecka-Stojko *et al.*, 2015).

3.3.3. Atividade anti-inflamatória

A propriedade anti-inflamatória deve-se nomeadamente à presença dos compostos polifenólicos, ácidos gordos e fitoesteróis. Há, de facto, estudos *in vivo* que demonstram que o extrato etanólico do pólen de abelha tem capacidade de inibir a atividade da cicloxigenase-2 (COX-2) e da lipoxigenase, enzimas responsáveis pela conversão do ácido araquidónico em compostos pró-inflamatórios como as prostaglandinas e os leucotrienos, assim como de inibir a produção de óxido nítrico, num nível equivalente aos anti-inflamatórios não esteroides naproxeno, fenilbutazona e indometacina (Komosinska-Vassev *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2018).

3.3.4. Atividade antioxidante

A atividade antioxidante do pólen, além de ser uma das mais estudadas, poderá ser considerada como uma das mais relevante, uma vez que o *stress* oxidativo é um mecanismo associado a várias doenças. Está provado, tanto *in vitro* como *in vivo*, que o extrato de pólen contribui para a inibição e remoção de ROS, devido à presença de ácidos fenólicos como o Ácido Vanílico, Gálico e P-Cumarínico e flavonoides como Hesperidina, Rutina, Kaempferol, Apigenina, Quercetina, Isorhamnetina e Luteolina, cuja ação antioxidante é bem conhecida e está já muito bem documentada. Há ainda a contribuição dos carotenoides, das vitaminas A, C e E para esta propriedade (Denisow e Denisow-Pietrzyk, 2016; Mărgăoan *et al.*, 2019).

3.3.5. Atividades cardioprotetora e antiaterosclerótica

Esta propriedade está associada ao efeito hipolipemiante do pólen, uma vez que reduz a concentração de lípidos e triglicéridos no sangue. Este efeito antiaterosclerótico está associado à presença de ácidos gordos insaturados, nomeadamente ómega-3 e ácido α -linolénico, de fosfolípidos e de fitoesteróis, pois estes complexam com o colesterol, fazendo com que reduza o colesterol circulante no sangue. Existem estudos clínicos que mostram um decréscimo dos níveis de colesterol em pacientes com aterosclerose e uma melhoria no fluxo sanguíneo, também associado ao facto do pólen ter uma ação sobre a agregação plaquetar e o sistema fibrinolítico. Esta manutenção e melhoria da circulação sanguínea e da função coronária está também associada à presença de flavonoides no pólen de abelha.

Tudo isto contribui assim para a redução do risco de AVC e de doenças cardiovasculares e para a melhoria da função cardíaca e vascular (Denisow e Denisow-Pietrzyk, 2016; Komosinska-Vassev *et al.*, 2015; Szabat *et al.*, 2019).

3.3.6. Atividade hepatoprotetora

Esta propriedade está intimamente ligada à capacidade antioxidante devido à presença de compostos fenólicos, particularmente flavonoides e ácidos fenólicos. Este efeito tem sido nomeadamente estudado em morganhos intoxicados com metais pesados e depois tratados com extratos de pólen. Estes estudos demonstram a capacidade em diminuir danos provocados por substâncias tóxicas e de aumentar os níveis de enzimas presentes no fígado responsáveis pela eliminação de compostos exógenos, potencialmente prejudiciais (Denisow e Denisow-Pietrzyk, 2016; Komosinska-Vassev et al., 2015; Szabat et al., 2019).

3.3.7. Imunoestimulante /Antialérgico

Existem evidências de que extratos de pólen melhoram a resposta imunitária, estando associado, uma vez mais, à presença dos flavonoides, esteróis e polissacarídeos. Além disso, estudos mais recentes indicam que o pólen tem a capacidade de impedir a desgranulação dos mastócitos e a respetiva libertação de histamina, substância essa responsável pela resposta alérgica (Denisow e Denisow-Pietrzyk, 2016; Komosinska-Vassev et al., 2015).

Tabela 2. Relação entre as potenciais propriedades terapêuticas do pólen de abelha, respetiva composição química e exemplos de plantas com estas propriedades (Denisow e Denisow-Pietrzyk, 2016; Khalifa et al., 2021; Li et al., 2018; Märgäoan et al., 2019)

PROPRIEDADE	COMPOSTOS	ESPÉCIE DE PLANTA
Antibacteriana / Antifúngica	Flavonoides Ácidos fenólicos Oligossacarídeos	<i>Castanea spp.</i> , <i>Eucalyptus spp.</i> , <i>Taraxacum spp.</i> , <i>Trifolium spp.</i> , <i>Zea mays L.</i> , <i>Ranunculus sardous Crantz.</i> , <i>Ulex europaeus L.</i> , <i>Brassica napus L.</i> , <i>Helianthus annuus L.</i> , <i>Papaver somniferum L.</i>
Anticancerígena	Flavonoides Ácidos fenólicos Ácidos gordos	<i>Brassica campestris L.</i> , <i>Cistus incanus L.</i> , <i>Salix alba L.</i> , <i>Zea mays L.</i> ,
Anti-inflamatória	Flavonoides Ácidos gordos Fitoesteróis Minerais	<i>Pinus densiflora Siebold & Zucc.</i> , <i>Cistus spp.</i> , <i>Castanea sativa Mill.</i>
Antioxidante	Enzimas Flavonoides Ácidos fenólicos Carotenóides Vitaminas	<i>Helianthus annus L.</i> , <i>Brassica napus L.</i> , <i>Papaver somniferum L.</i> , <i>Cistus ladanifer L.</i> , <i>Echium plantagineum L.</i>
Cardioprotetora / Antiaterosclerótica	Ácidos gordos Fitoesteróis	<i>Aesculus hippocastanum L.</i> , <i>Castanea sativa Mill.</i> , <i>Prunus spp.</i> , <i>Salix spp.</i> , <i>Crataegus spp.</i> , <i>Schisandra chinensis (Turcz.) Baill.</i>
Hepatoprotetora	Flavonoides Ácidos Fenólicos	<i>Aesculus hippocastanum L.</i> , <i>Castanea sativa Mill.</i> , <i>Cystus incanus L.</i> , <i>Prosopis juliflora (Sw.) DC.</i> , <i>Schisandra chinensis (Turcz.) Baill.</i> , <i>Taraxacum spp.</i> , <i>Brassica napus L.</i> , <i>Castanea sativa L.</i>
Imunoestimulante / Antialérgica	Flavonoides Fitoesteróis Polissacarídeos	<i>Crataegus pinnatifida</i> , <i>Eucalyptus spp.</i> , <i>Malus spp.</i> , <i>Echium plantagineum L.</i>

4. A Aplicabilidade do Pólen na PEA

Os estudos feitos até hoje que relacionam diretamente o efeito do pólen de abelha na Perturbação do Espectro do Autismo são ainda escassos. Contudo, recentemente um grupo de investigadores da *King Saud University*, da Arábia Saudita, tem-se dedicado, nos últimos anos, exatamente a investigar o potencial do pólen de abelha como tratamento na PEA, através de modelos animais. Além disso, estes estudos têm contribuído para fundamentar e aprofundar os conhecimentos relativamente às alterações neurológicas e bioquímicas associadas a esta doença.

Dado o facto da PEA se tratar de uma doença neurológica, houve a necessidade de criar modelos de doença animais, através da indução das características autísticas típicas, com o mesmo tipo de biomarcadores da doença dos humanos, de modo a representar proximamente os mecanismos humanos. Este grupo de investigação optou por um método químico, através da administração de ácido propiónico (AP), uma vez que, como referido anteriormente, tem a capacidade de passar a barreira hematoencefálica e de induzir mudanças bioquímicas, comportamentais e neuropatológicas em ratos, semelhantes às presentes em pacientes de PEA, ou seja, imparidade na interação social, comportamentos repetitivos e ansiedade (Abed *et al.*, 2019; Al-Salem *et al.*, 2016; El-Ansary *et al.*, 2017; Sumathi *et al.*, 2020).

O primeiro trabalho, publicado em 2016, teve como objetivo investigar os efeitos benéficos do pólen de abelha, em situação de toxicidade cerebral aguda e subaguda em ratos albinos, através da análise dos níveis de serotonina (5-HT), dopamina (DA), noradrenalina (NA), INF- γ e da enzima caspase 3. Os resultados foram obtidos a partir da comparação de quatro grupos: um grupo controlo em que apenas foi administrado uma solução tampão com fosfato; um segundo e terceiro grupo aos quais foi administrado ácido propiónico em intervalos de tempo diferentes, representando a exposição aguda e subaguda, respetivamente; e um quarto grupo ao qual foi dado pólen de abelha, 100% natural.

Os resultados obtidos mostraram que os grupos expostos ao AP apresentavam um aumento significativo de INF- γ e da caspase-3 e uma diminuição dos três neurotransmissores NA, DA e 5-HT, em relação ao grupo controlo, sendo que o grupo de exposição subaguda exibiu efeitos mais tóxicos. O grupo ao qual foi dado o pólen mostrou uma melhoria em todos os parâmetros analisados em relação aos grupos expostos ao AP.

Os autores deste estudo acreditam que o aumento dos níveis de INF- γ , identificado como marcador de neuroinflamação, está relacionado com a depleção em serotonina, uma vez que o INF- γ é responsável por induzir uma enzima (Indolamina 2,3-dioxigenase) que

catalisa a degradação do triptofano, aminoácido precursor da serotonina, resultando na depleção deste neurotransmissor.

O efeito positivo do pólen pode dever-se não só à sua atividade anti-inflamatória devido à presença dos flavonoides, como pode estar associado à sua composição em proteína, nomeadamente os aminoácidos essenciais fenilalanina e triptofano. De facto, existem estudos que relacionam a alimentação, nomeadamente, a ingestão e a disponibilidade de aminoácidos precursores de neurotransmissores, com a respetiva concentração de NT e, assim, com a função cerebral. Estes dados corroboram a ideia de que o efeito benéfico do pólen pode estar associado ao seu conteúdo em triptofano, uma vez que também já há evidências da existência de uma relação entre a depleção de triptofano e a agravamento dos comportamentos sociais, cuja melhoria ocorre quando é feita uma suplementação neste aminoácido.

Em relação à caspase-3, acredita-se que o aumento desta enzima nos ratos expostos ao AP, poderá resultar da elevação da proteína precursora amilóide, cuja concentração já foi reportada como sendo mais elevada em doentes com PEA e que é responsável pela ativação destas proteínas apoptóticas. O efeito do pólen neste mecanismo pode ser atribuído ao efeito antioxidante e anti-inflamatório pela presença principalmente de flavonoides, uma vez que existem também já estudos que atribuem aos flavonoides a capacidade de proteger contra a apoptose neuronal, através da inibição das vias de sinalização mitocondriais e das caspases.

Neste estudo foi também possível verificar uma correlação positiva entre a concentração de INF- γ e a caspase 3, comprovando a influencia de neuroinflamação na perda neuronal, dados que corroboram outros estudos feitos, nos quais foi associado o aumento dos níveis de TNF- α e INF- γ com a ativação da caspase 3 e 7.

Por outro lado, os resultados deste estudo demonstram a capacidade do pólen de abelha em reverter os efeitos negativos resultantes da exposição ao AP, provando o seu contributo na melhoria dos indicadores patológicos da PEA (Al-Salem *et al.*, 2016).

No ano seguinte, este grupo, usando o mesmo desenho de estudo, avaliou a excitotoxicidade do glutamato, outro mecanismo etiológico da doença, usando como parâmetros de avaliação os níveis de glutamato, GABA, glutamina e a relação glutamato/glutamina e GABA/glutamato.

Os resultados mostraram que os grupos de ratos expostos ao AP apresentaram uma elevação dos níveis de glutamato e do ratio glutamato/glutamina, com a concomitante diminuição dos valores de GABA, glutamina e do ratio GABA/glutamina. O aumento significativo no ratio glutamato/glutamina no grupo exposto ao ácido propiónico permite concluir que a via de metabolização do glutamato está de facto afetada nesta doença, o que corrobora outras investigações onde foi estudada esta relação em pacientes autistas.

O pólen apresentou ter um efeito positivo nos ratos com neurointoxicação e aos quais foi depois administrado o pólen, ao aumentar a concentração tanto de GABA como de glutamina e ao diminuir os níveis de glutamato, o que mais uma vez, pode ser explicado pelo seu efeito antioxidante, devido à presença dos flavonoides (El-Ansary *et al.*, 2017). Isto é suportado por um estudo no qual foi possível encontrar flavonoides e os seus metabolitos no cérebro de roedores, após administração oral, provando a capacidade destes compostos em atravessar a barreira hematoencefálica (Franco *et al.*, 2010).

Em 2019 foi feito outro estudo, desta vez em hámsteres, mas igualmente expostos a AP nas mesmas condições que os estudos anteriores, em que o objetivo foi avaliar o efeito do pólen de abelha na neuroinflamação, tendo avaliado como parâmetros as citocinas IFN- γ , IL-1 α , IL-6, e IL-10, IL-12, VEGF e TNF- α .

Os resultados exibiram um decréscimo dos níveis de IL-10, VEGF e TNF- α , com aumento de IL-1 α , IL-6 e IFN- γ no grupo exposto ao composto tóxico em relação ao grupo controlo. Este aumento da citocina pró-inflamatória IL-6 e o concomitante decréscimo da citocina anti-inflamatória IL-10, demonstram o efeito neurotóxico do AP e corroboram os dados já existentes em relação aos níveis de IL-6 habitualmente mais elevados em indivíduos com PEA.

Esta neurotoxicidade apresentou melhorias nos grupos de hámsteres tratados com pólen, ao se ter verificado que os valores de IL-10 e IL-6 eram muito semelhantes aos valores do grupo controlo, ou seja, do grupo de animais saudáveis.

Outra variável avaliada foi a presença de bactérias *Clostridium difficile*, através da análise da presença de antigénios contra esta bactéria, e a respetiva produção de toxina A e B. Foi possível verificar que no grupo tratado com pólen não só não se detetou nenhuma das toxinas produzidas por estas bactérias, como nem sequer foi detetado antigénio. A presença de oligossacarídeos no pólen de abelha, compostos estes conhecidos como tendo efeito pré-biótico e, por isso, benéfico na regulação da microbiota, assim como antibacteriano, é apresentada como uma hipótese explicativa destes resultados.

O grupo tratado com pólen de abelha apresentou uma melhoria dos efeitos neurotóxicos, através do aumento significativo dos valores de IL-10 e da diminuição de IFN- γ , IL-1 α , IL-6, VEGF e TNF- α . Estes resultados confirmam o efeito anti-inflamatório que lhe é reivindicado e que está associado à presença de flavonoides, mais concretamente o flavonoide quercetina, que se sabe ter ação sobre a cascata de metabolização do ácido araquidónico e à presença de ácidos gordos e fitoesteróis.

Assim sendo, com este estudo, não só foi possível corroborar a ideia de que existe uma relação entre a neurotoxicidade e variações imunitárias, como permitiu demonstrar o

benefício da administração do pólen de abelha em duas vertentes diferentes devido às suas diferentes propriedades (Aabed *et al.*, 2019).

O trabalho mais recente, publicado em 2020 por este grupo de investigadores, teve como foco o estudo do efeito antioxidante e hepatoprotetor do pólen em profilaxia, isto é, em pré-exposição ao composto tóxico, e também depois da exposição, através da avaliação de biomarcadores da função hepática e da função renal. Também teve como objeto de estudo perceber de que modo esse efeito do pólen de abelha varia consoante a fração extraída.

Foi feita uma extração dos grãos de pólen 100% natural partir da qual se fizeram quatro frações com cinco solventes diferentes: éter de petróleo (PGP), diclorometano (PGC), acetato de etilo (PGE), n-butanol (PGB) e água (PGA).

Este estudo foi realizado uma vez mais em ratos com características autísticas induzidas por AP, sendo que o grupo controlo (Grupo I) recebeu apenas uma solução tampão com fosfato; o Grupo II foi exposto ao AP durante 3 dias; os Grupos III, IV e V, receberam as frações PGE, PGB e PGP, respetivamente, durante um mês e depois foram expostos ao AP, representando o tratamento profilático; e os Grupos VI, VII e VIII foram expostos primeiramente ao AP e posteriormente foram-lhes administradas as frações PGE, PGB e PGP, respetivamente, representado por sua vez os grupos de tratamento.

Os parâmetros bioquímicos analisados foram os níveis de cálcio, albumina, ureia, ácido úrico (indicadores de dano renal), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamilttransferase (GGT) e fosfatase alcalina (ALP) (indicadores de dano hepático) e o perfil lipídico. Além disso, foi também avaliado o status antioxidante através da determinação dos níveis de catalase, vitamina C, glutathione (GSH) e glutathione S-transferase (GST).

Os investigadores, neste trabalho, fizeram ainda a separação e identificação dos componentes da fração PGE, tendo isolado quatro compostos diferentes e identificados como sendo Kaempferol, Isorhamnetina, Quercetina e Quercetina-4'-O-glicósido. Esta composição encontra-se de acordo com outros estudos feitos à composição dos grãos de pólen, nomeadamente quanto aos compostos fenólicos, conhecidos como sendo responsáveis pela atividade antioxidante.

Os resultados deste estudo corroboram as informações que se têm vindo a constatar no que diz respeito aos efeitos prejudiciais do AP, uma vez os grupos expostos ao AP apresentaram aumento dos níveis de triglicéridos, LDL-C e colesterol total com concomitante redução de HDL-C e aumento das enzimas hepáticas ALT, AST e GGT, assim como dos biomarcadores renais, isto, de cálcio, ácido úrico, ureia e albumina em relação ao grupo controlo, revelando disfunção hepática e disfunção renal, respetivamente.

Os grupos que foram expostos ao ácido propiónico depois de lhes já ter sido administrado as frações de pólen, ou seja, os grupos de pré-tratamento, apresentaram níveis de ALT e AST mais baixos do que os do grupo II (apenas exposto ao AP), já os níveis de ALP não sofreram uma alteração significativa. Além disso, os níveis de colesterol total, triglicéridos e LDL-C sofreram uma diminuição nos três grupos pré-tratados e os níveis de HDL-C aumentaram nomeadamente no grupo III e IV (PGE e PGB, respetivamente). Estes resultados permitem demonstrar a capacidade que as diferentes frações do pólen de abelha têm em restaurar o normal funcionamento hepático, danificado pela exposição ao AP, mesmo em tratamento profilático.

Em relação aos grupos tratados após a exposição ao AP, isto é, os grupos VI, VII, VIII, foi possível observar-se uma diminuição dos níveis de ALT e AST e um aumento significativo de ALP nos grupos VI e VIII. Os valores de colesterol total, triglicéridos, LDL-C e HDL-C, não apresentaram uma diferença significativa entre os grupos aos quais foram administrados as frações e o grupo apenas exposto ao AP, sendo que só grupo VII (PGB) demonstrou um ligeiro aumento dos níveis de HDL-C.

Todos os grupos tanto pré como pós-tratados mostraram capacidade de inibir o aumento dos níveis de ureia induzidos pela intoxicação por AP comparando com os grupos controlo e exposto ao ácido. No entanto, nenhum deles apresentou efeito sobre os níveis aumentados de ácido úrico. O grupo tratado previamente com PGB (grupo IV) mostrou uma redução significativa dos níveis de albumina e no caso dos grupos de pós-tratamento essa redução aconteceu particularmente com as frações PGE e PGP.

No que diz respeito aos indicadores de antioxidantes, verificou-se uma diminuição dos níveis de vitamina C e das enzimas GSH, GST e CAT, nos grupos expostos ao AP. Sendo que, nos grupos pré-tratados, os níveis de todas estas variáveis sofreram uma melhoria significativa exceto no caso da enzima GSH em que esse aumento não foi tão significativo. Por sua vez, nos grupos pós-tratados todos estes níveis também melhoraram comparativamente ao grupo II (grupo exposto ao AP apenas), no entanto, relativamente à enzima GSH, apenas foi significante no grupo ao qual foi administrado a fração PGP e em relação às enzimas GST e CAT, o grupo VII (PGB) não apresentou efeito.

Além de todos estes parâmetros, os investigadores mediram ainda os níveis de um metabolito final da peroxidação lipídica – o malonaldeído (MDA), – uma vez que as espécies reativas de oxigénio degradam lípidos polinsaturados formando este composto, pelo que é considerado um marcador de *stress* oxidativo. Neste estudo observaram que estes níveis aumentaram no grupo de ratos expostos ao ácido propiónico, confirmando a produção aumentada de espécies reativas e a respetiva disfunção cerebral neste grupo de ratos.

Em suma, os resultados deste estudo permitiram, além de identificar alguns dos compostos presentes no pólen aos quais se atribui as suas propriedades terapêuticas, perceber quais são os parâmetros bioquímicos alterados e que contribuem para o *stress* oxidativo, que se sabe ser uma das componentes patológicas da PEA. Também permitiu demonstrar a eficácia da administração do pólen de abelha, mesmo na forma de frações, tanto em profilaxia como em tratamento pós exposição, provando a sua capacidade antioxidante e hepatoprotetora (Al-Salem *et al.*, 2020).

5. Obstáculos/Futuro

5.1. Variabilidade da Composição

Uma das dificuldades existentes na aplicação do pólen de abelha da medicina está relacionada com a variabilidade da sua composição associada aos fatores externos, como a espécie da planta de onde é recolhido e a altura do ano em que é feita, o que terá impacto na suas atividades biológicas e respetiva propriedades terapêuticas (Denisow e Denisow-Pietrzyk, 2016). Uma das soluções possíveis para esta questão seria a análise prévia dos diferentes pólenes e formular uma mistura que permitisse obter um produto final com composição constante e, portanto, com iguais propriedades terapêuticas (Campos *et al.*, 2010).

5.2. Biodisponibilidade

Outra questão prende-se com a estrutura dos próprios grãos de pólen que na sua forma seca apresentam uma casca dura externa e interna chamada exina e intina, respetivamente, tornando a absorção gastrointestinal dos compostos mais difícil, reduzindo a biodisponibilidade dos mesmos no organismo. Para contornar este problema, o pólen deve ser submetido a processo de transformação como por exemplo a pulverização ou moagem. Outra solução possível e que a nível de biodisponibilidade dos componentes tem apresentado melhores resultados é a produção de extratos aquosos ou etanólicos a partir dos grãos de pólen (Kieliszek *et al.*, 2018; Komosinska-Vassev *et al.*, 2015).

5.3. Contaminantes

Um outro problema também existente tem a ver com o facto de que o pólen de abelha, sendo o produto com origem em plantas, podem também conter alcaloides pirrolizidínicos, que se encontram em espécies como *Echium vulgare*, *E. plantagineum*, *Senecio jacobaea*, *S. ovatus*, *Eupatorium cannabinum* e *Symphytum officinale* e elementos tóxicos e micotoxinas, tornando-se prejudicial à saúde humana. Além disto, o pólen de abelha, quando colhido, apresenta elevados níveis de humidade (20 a 30%), propícios à proliferação de microrganismos e a reações químicas enzimáticas que podem degradar os compostos e afetar a qualidade e as propriedades finais do pólen.

Estes problemas podem ser resolvidos com o controlo e testagem de todos estes contaminantes e estabelecendo os seus limites máximos aceitáveis e os limites máximos aceitáveis de humidade, assim como com o estabelecimento de boas práticas de cultura e

armazenamento e processos de secagem, uma vez que o próprio processo de secagem pode afetar a composição em compostos ativos e as respectivas propriedades terapêuticas.

Há já, de facto, alguns países que têm regulamentações a este respeito como é o caso da Suíça, no entanto, o desejável é que estas regras sejam uniformizadas e aplicadas a todos os países para que os pilares de qualidade e segurança sejam assegurados de forma transversal (Campos *et al.*, 2010; Kieliszek *et al.*, 2018; Kostić *et al.*, 2020). Neste sentido, em 2017, foi criada a norma ISO/TC 34/SC 19, que visa standardizar todos os processos associados aos produtos derivados da abelha e está em criação a ISO/WD 24382, que irá conter todas as especificações relacionadas com o pólen de abelha (ISO 2017; ISO 2020).

5.4. Alergias

Apesar de evidências da propriedade antialérgica do pólen de abelha e das reações alérgicas estarem nomeadamente associadas ao pólen das flores presente no ar, não se deve excluir a possibilidade de uma reação alérgica causada pelo pólen de abelha, principalmente depois de já ter sido reportados casos. Assim sendo, permanece recomendado que pessoas suscetíveis a alergias e asma evitem o pólen de abelha (Kostić *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2018).

6. Conclusão

O aumento da prevalência de crianças com Perturbação do Espectro do Autismo é uma preocupação, nomeadamente pelo facto de ser uma patologia sobre a qual o conhecimento é ainda escasso, sem nenhum tipo de tratamento direcionado, difícil de gerir e sobre a qual existe ainda um grande estigma social. Além disso, representa um peso económico elevado para as famílias e para a sociedade, pelo que é urgente que sejam feitos mais trabalhos de modo a descobrir mais sobre os mecanismos etiológicos da doença, formas de diagnóstico precoces, mas especialmente para que se chegue a uma solução terapêutica direcionada aos sintomas *core*, não só para melhorar a qualidade de vida do doente, como das pessoas suas envolventes.

Apesar de ainda não existirem evidências clínicas documentadas do efeito positivo do pólen em doentes com Perturbação do Espectro do Autismo, os estudos já efetuados sobre a composição do pólen de abelha, as suas propriedades e até o seu efeito em outro tipo de doenças, provam o seu grande potencial terapêutico, nomeadamente como anti-inflamatório, antioxidante, antibacteriano e hepatoprotetor. Estas propriedades do pólen chamam particularmente à atenção pelo facto da PEA ser uma doença que integra vários mecanismos patológicos, nomeadamente *stress* oxidativo e neuroinflamação e aos quais ainda estão associados outro tipo de disfunções como a desregulação da flora intestinal, onde estas múltiplas propriedades do pólen têm potencial para atuar e trazer um efeito benéfico. Além desta relação teórica que é possível estabelecer entre as propriedades do pólen de abelha e a sua aplicabilidade terapêutica na PEA, os resultados muito positivos obtidos nos estudos *in vivo* existentes, confirmam o efeito do pólen de abelha exatamente nestas várias vertentes patológicas que, apesar da grande variabilidade inerente à doença classificada como Perturbação do Espectro do Autismo, se sabe serem comuns aos diferentes pacientes.

Estes dados mostram o grande potencial deste produto como solução que até agora ainda não foi encontrada e, por isso, motivam a continuação da exploração desta hipótese.

Contudo, existem ainda várias questões a ter em conta e que carecem de mais investigação antes que se possa efetivamente chegar ao uso em prática clínica. Nomeadamente, para além de ser necessário que mais estudos sejam feitos à doença em si, é preciso que sejam feitos estudos clínicos para concluir sobre a efetividade, eficácia e segurança do pólen em pacientes de PEA. Adicionalmente, é preciso trabalhar sobre as questões relacionadas com o pólen, mais concretamente, sobre a harmonização dos métodos de colheita e armazenamento, sobre a padronização da sua composição e, considerando a vertente mais tecnológica, sobre a forma farmacêutica mais adequada e viável possível para a melhor eficácia deste produto.

7. Referências Bibliográficas

AABED, Kawther *et al.* - Bee pollen and propolis improve neuroinflammation and dysbiosis induced by propionic acid, a short chain fatty acid in a rodent model of autism. **Lipids in Health and Disease**. ISSN 1476511X. 18:1 (2019) 1–8. doi: 10.1186/s12944-019-1150-0.

AL-DEWIK, Nader *et al.* - **Overview and Introduction to Autism Spectrum Disorder (ASD)**. Em ESSA, M. MOHAMED; QORONFLEH, M. WALID (Eds.). *Personalized Food Intervention and Therapy for Autism Spectrum Disorder Management - Advances in Neurobiology*, Switzerland: Springer Nature Switzerland AG. [Consultado a 27/02/2021] Disponível em <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-30402-7>. ISBN 978-3-030-30401-0v. 24. (2020) p. 3–42.

AL-SALEM, Huda S. *et al.* - Therapeutic potency of bee pollen against biochemical autistic features induced through acute and sub-acute neurotoxicity of orally administered propionic acid. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. ISSN 14726882. 16:120 (2016) 1–10. doi: 10.1186/s12906-016-1099-8.

AL-SALEM, Huda S. *et al.* - Antioxidant and hepatorenal protective effects of bee pollen fractions against propionic acid-induced autistic feature in rats. **Food Science and Nutrition**. ISSN 20487177. 8:9 (2020) 5114–5127. doi: 10.1002/fsn3.1813.

ASPERGER, H. - «Autistic psychopathy» in childhood. Em FRITH, UTA (Ed.) - **Autism and Asperger Syndrome**. (1991) p. 37–92.

BAI, Dan *et al.* - Association of Genetic and Environmental Factors with Autism in a 5-Country Cohort. **JAMA Psychiatry**. ISSN 2168622X. 76:10 (2019) 1035–1043. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2019.1411.

BHANDARI, Ranjana; PALIWAL, Jyoti K.; KUHAD, Anurang - **Neuropsychopathology of Autism Spectrum Disorder: Complex Interplay of Genetic, Epigenetic, and Environmental Factors**. Em ESSA, M. MOHAMED; QORONFLEH, M. WALID (Eds.). *Personalized Food Intervention and Therapy for Autism Spectrum Disorder Management - Advances in Neurobiology*, Switzerland: Springer Nature Switzerland AG. [Consultado a 27/02/2021] Disponível em <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-30402-7>. ISBN 978-3-030-30401-0. v. 24. (2020a) p. 97-141.

BHANDARI, Ranjana; PALIWAL, Jyoti K.; KUHAD, Anurang - **Dietary Phytochemicals as Neurotherapeutics for Autism Spectrum Disorder: Plausible Mechanism and Evidence**. Em ESSA, M. MOHAMED; QORONFLEH, M. WALID (Eds.). *Personalized Food*

Intervention and Therapy for Autism Spectrum Disorder Management - Advances in Neurobiology, Switzerland: Springer Nature Switzerland AG. [Consultado a 27/02/2021] Disponível em <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-30402-7>>. ISBN 978-3-030-30401-0. v. 24. (2020b) p. 615-646.

CAMPOS, Maria Graça R. *et al.* - What is the future of Bee-Pollen? **Journal of ApiProduct and ApiMedical Science**. 2:4 (2010) 131–144. doi: 10.3896/ibra.4.02.4.01.

CDC – Centers for Disease Control and Prevention, 2020. [Consultado a 16/07/2021] Autism Spectrum Disorder: Diagnostic Criteria. Disponível em <https://www.cdc.gov/ncbddd/autism/hcp-dsm.html>

DENISOW, Bożena; DENISOW-PIETRZYK, Marta - Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. **Journal of the science of food and agriculture**. ISSN 10970010. 96:13 (2016) 4303–4309. doi: 10.1002/jsfa.7729.

EISSA, Nermin *et al.* - Current enlightenment about etiology and pharmacological treatment of autism spectrum disorder. **Frontiers in Neuroscience**. ISSN 1662453X. 12:304 (2018). doi: 10.3389/fnins.2018.00304.

EL-ANSARY, Afaf *et al.* - Glutamate excitotoxicity induced by orally administered propionic acid, a short chain fatty acid can be ameliorated by bee pollen. **Lipids in Health and Disease**. ISSN 1476511X. 16:96 (2017) 1–9. doi: 10.1186/s12944-017-0485-7.

FRANCO, Jeferson L. *et al.* - Structure-activity relationship of flavonoids derived from medicinal plants in preventing methylmercury-induced mitochondrial dysfunction. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. ISSN 13826689. 30:3 (2010) 272–278. doi: 10.1016/j.etap.2010.07.003.

FUENTES, Joaquin; HERVÁS, Amaia; HOWLIN, Patricia - ESCAP practice guidance for autism: a summary of evidence-based recommendations for diagnosis and treatment. **European Child and Adolescent Psychiatry**. ISSN 1435165X. 30:6 (2021) 961–984. doi: 10.1007/s00787-020-01587-4.

GARDANA, Claudio *et al.* - Nutrients, phytochemicals and botanical origin of commercial bee pollen from different geographical areas. **Journal of Food Composition and Analysis**. ISSN 08891575. 73:December 2017 (2018) 29–38. doi: 10.1016/j.jfca.2018.07.009.

HALLMAYER, Joachim *et al.* - Genetic Heritability and Shared Environmental Factors Among Twin Pairs With Autism. **Arch Gen Psychiatry**. 68:11 (2015) 1095–1102. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2011.76.Genetic.

HARTMAN, Richard E.; PATEL, Dhira - **Dietary Approaches to the Management of Autism Spectrum Disorders**. Em ESSA, M. MOHAMED; QORONFLEH, M. WALID (Eds.). Personalized Food Intervention and Therapy for Autism Spectrum Disorder Management - Advances in Neurobiology, Switzerland: Springer Nature Switzerland AG. [Consultado a 27/02/2021] Disponível em <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-30402-7>>. ISBN 978-3-030-30401-0. v. 24. (2020) p. 547-571

HO, Lucius Kang Hua *et al.* - Gut microbiota changes in children with autism spectrum disorder: A systematic review. **Gut Pathogens**. ISSN 17574749. 12:1 (2020) 1–18. doi: 10.1186/s13099-020-0346-1.

ISO - International Organization for Standardization, 2017. [Consultado a 16/07/2021]. ISO/TC 34/SC 19: Bee products. Disponível em <https://www.iso.org/committee/6716626.html>

ISO - International Organization for Standardization, 2020. [Consultado a 16/07/2021]. ISO/WD 24382: Bee pollen – Specifications (Under development - Stage: 20.20) Disponível em <https://www.iso.org/standard/78544.html>

KANNER, Leo - Autistic Disturbances of Affective Contact. **Nervous Child**. 2:1943) 217–250.

KHALIFA, Shaden A. M. *et al.* - Bee pollen: Current status and therapeutic potential. **Nutrients**. ISSN 20726643. 13:1876 (2021) 1–15. doi: 10.3390/nu13061876.

KIELISZEK, Marek *et al.* - Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. **Trends in Food Science and Technology**. ISSN 09242244. 71:2018) 170–180. doi: 10.1016/j.tifs.2017.10.021.

KOMOSINSKA-VASSEV, Katarzyna *et al.* - Bee pollen: Chemical composition and therapeutic application. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**. ISSN 17414288. 2015:2015). doi: 10.1155/2015/297425.

KOSTIĆ, Aleksandar *et al.* - The application of pollen as a functional food and feed ingredient—The present and perspectives. **Biomolecules**. ISSN 2218273X. 10:1 (2020) 1–36. doi: 10.3390/biom10010084.

LI, Qiang Qiang *et al.* - Nutrient-rich bee pollen: A treasure trove of active natural metabolites. **Journal of Functional Foods**. ISSN 17564646. 49:2018) 472–484. doi: 10.1016/j.jff.2018.09.008.

LORD, Catherine; RUTTER, Michael; COUTEUR, Ann LE - Autism Diagnostic Interview-

Revised: A Revised Version of a Diagnostic Interview for Caregivers of Individuals with Possible Pervasive Developmental Disorders. **Journal of Autism and Developmental Disorder**. 24:5 (1994) 659–685.

MAENNER, Matthew J. *et al.* - Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 Years-Autism and developmental disabilities monitoring network, 11 Sites, United States, 2016. **MMWR Surveillance Summaries**. 69:4 (2020) 1–12. ISSN 15458636.

MANIVASAGAM, Thamilarsan, *et al.* - **Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Autism**. Em ESSA, M. MOHAMED; QORONFLEH, M. WALID (Eds.). Personalized Food Intervention and Therapy for Autism Spectrum Disorder Management - Advances in Neurobiology, Switzerland: Springer Nature Switzerland AG. [Consultado a 27/02/2021] Disponível em <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-30402-7>. ISBN 978-3-030-30401-0. v. 24. (2020) p. 193-206

MĂRGĂOAN, Rodica *et al.* - Bee collected pollen and bee bread: Bioactive constituents and health benefits. **Antioxidants**. ISSN 20763921. 8:568 (2019) 1–33. doi: 10.3390/antiox8120568.

MCCRIMMON, Adam; ROSTAD, Kristin - Test Review: Autism Diagnostic Observation Schedule, Second Edition (ADOS-2) Manual (Part II): Toddler Module. **Journal of Psychoeducational Assessment**. ISSN 07342829. 32:1 (2014) 88–92. doi: 10.1177/0734282913490916.

MONTGOMERY, Janine Marie; NEWTON, Brendan; SMITH, Christiane - Gilliam, J. (2006). GARS-2: Gilliam Autism Rating Scale'Second Edition. Austin, TX: PRO-ED. **Journal of Psychoeducational Assessment**. ISSN 07342829. 26:4 (2008) 395–401. doi: 10.1177/0734282908317116.

ROSENBERG, Rebecca E. *et al.* - Characteristics and concordance of autism spectrum disorders among 277 twin pairs. **Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine**. ISSN 10724710. 163:10 (2009) 907–914. doi: 10.1001/archpediatrics.2009.98.

RZEPECKA-STOJKO, Anna *et al.* - Polyphenols from Bee Pollen: Structure, absorption, metabolism and biological activity. **Molecules**. ISSN 14203049. 20:12 (2015) 21732–21749. doi: 10.3390/molecules201219800.

SHALTOUT, Eman *et al.* - **Psychological Comorbidities in Autism Spectrum Disorder**. Em ESSA, M. MOHAMED; QORONFLEH, M. WALID (Eds.). Personalized Food Intervention and Therapy for Autism Spectrum Disorder Management - Advances in

Neurobiology, Switzerland: Springer Nature Switzerland AG. [Consultado a 27/02/2021] Disponível em <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-30402-7>>. ISBN 978-3-030-30401-0. v. 24. (2020) p. 163-191

SHARMA, Samata R.; GONDA, Xenia; TARAZI, Frank I. - Autism Spectrum Disorder: Classification, diagnosis and therapy. **Pharmacology and Therapeutics**. ISSN 1879016X. 190:2018) 91–104. doi: 10.1016/j.pharmthera.2018.05.007.

SKUSE, David *et al.* - The developmental, dimensional and diagnostic interview (3di): A novel computerized assessment for autism spectrum disorders. **Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry**. ISSN 08908567. 43:5 (2004) 548–558. doi: 10.1097/00004583-200405000-00008.

SUMATHI, T., *et al.* - **The Role of Gluten in Autism**. Em ESSA, M. MOHAMED; QORONFLEH, M. WALID (Eds.). *Personalized Food Intervention and Therapy for Autism Spectrum Disorder Management - Advances in Neurobiology*, Switzerland: Springer Nature Switzerland AG. [Consultado a 27/02/2021] Disponível em <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-30402-7>>. ISBN 978-3-030-30401-0. v. 24. (2020) p. 469-479

SZABAT, Przemysław *et al.* - Apitherapy—the medical use of bee products. **Journal of Education, Health and Sport**. ISSN 2391-8306. 9:8 (2019) 384–396.

TREFFERT, Darold A. - Epidemiology of Infantile Autism. **Archives of General Psychiatry**. ISSN 15383636. 22:5 (1970) 431–438. doi: 10.1001/archpsyc.1970.01740290047006.

VENKATESAN, Manigandan - **Bioactive Metabolites from Marine Ascidians: Future Treatment for Autism Spectrum Disorder**. Em ESSA, M. MOHAMED; QORONFLEH, M. WALID (Eds.). *Personalized Food Intervention and Therapy for Autism Spectrum Disorder Management - Advances in Neurobiology*, Switzerland: Springer Nature Switzerland AG. [Consultado a 27/02/2021] Disponível em <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-30402-7>>. ISBN 978-3-030-30401-0. v. 24. (2020) p. 661-678

VOLKMAR, Fred R.; REICHOW, Brian; MCPARTLAND, James - Classification of autism and related conditions: Progress, challenges, and opportunities. **Dialogues in Clinical Neuroscience**. ISSN 12948322. 14:2012) 229–237. doi: 10.31887/dcns.2012.14.3/fvolkmar.

WING, Lorna *et al.* - The Diagnostic Interview for Social and Communication Disorders: Background, inter-rater reliability and clinical use. **Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines**. ISSN 00219630. 43:3 (2002) 307–325.