



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

João Pedro Leitão Inês

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “A Influência das Hormonas Sexuais no Desenvolvimento de Doenças Neurodegenerativas” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Olga Simões, do Dr. Pedro Baptista e do Professor Doutor Luís Loura, 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**

**João Pedro Leitão Inês**

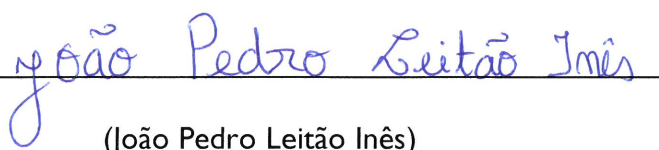
Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “A Influência das Hormonas Sexuais no Desenvolvimento de Doenças Neurodegenerativas” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Olga Simões, do Dr. Pedro Baptista e do Professor Doutor Luís Loura, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

**Setembro 2021**

Eu, João Pedro Leitão Inês, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2016232513, declaro assumir toda a responsabilidade do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “A Influência das Hormonas Sexuais no Desenvolvimento de Doenças Neurodegenerativas” apresentado 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, 8 de setembro de 2021.

  
\_\_\_\_\_  
(João Pedro Leitão Inês)

## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor Luís Loura pela dedicação, pelo exemplo, pela constante disponibilidade e por toda a ajuda na minha orientação.

À Dra. Olga Simões pela simpatia, disponibilidade e pelo empenho na partilha de conhecimentos.

A toda os colaboradores da Plural+Udifar pela forma amistosa e acolhedora com que me receberam.

Ao Dr. Pedro Baptista pela confiança, pelo apoio e pelo exemplo de profissionalismo.

Um agradecimento especial a toda a equipa da Farmácia Universal pelos bons momentos passados, pelos conhecimentos transmitidos e pelas amizades criadas.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra pela dedicação aos estudantes.

À Phartuna- Tuna de Farmácia de Coimbra pela constante aprendizagem, pelos momentos, pelas amizades e pelas memórias que deixam saudade.

A todos os meus amigos que se cruzaram comigo e me acompanharam nesta jornada.

Aos meus pais por todo o seu esforço que fez com que eu chegasse até aqui e à minha família por acreditar sempre em mim.

À Joana por ser o meu porto de abrigo.

Um bem-haja a todos vós!

# Índice

## Relatório de Estágio em Distribuição por Grosso de Medicamentos | Plural-Cooperativa Farmacêutica, CRL

<b>Lista de Abreviaturas</b> .....	7
<b>1. Introdução</b> .....	8
<b>2. Plural - Cooperativa Farmacêutica, CRL</b> .....	8
<b>3. Análise SWOT</b> .....	9
<b>3.1- Pontos Fortes</b> .....	9
3.1.1- Equipa de colaboradores.....	9
3.1.2- Diversidade das tarefas desempenhadas.....	10
3.1.3- Organização e automatismo do armazém.....	11
3.1.4- Autonomia e confiança .....	12
3.1.5- Dimensão da empresa .....	12
3.1.6- Constante contextualização do funcionamento da empresa .....	13
<b>3.2- Pontos Fracos</b> .....	13
3.2.1- Reduzida aplicabilidade de conhecimentos científicos.....	13
3.2.2- Visão do medicamento .....	13
3.2.3- Impacto da pandemia .....	14
<b>3.3- Oportunidades</b> .....	14
3.3.1- Extrapolação de conhecimentos para a Farmácia de Oficina.....	14
3.3.2- Perceção do funcionamento logístico e de gestão .....	15
<b>3.3- Ameaças</b> .....	15
3.3.1- Função do Farmacêutico no setor da Distribuição.....	15
<b>4. Considerações Finais</b> .....	16
<b>5. Referências Bibliográficas</b> .....	16
<b>6. Anexo</b> .....	17

## Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária | Farmácia Universal

<b>Lista de Abreviaturas</b> .....	19
<b>1. Introdução</b> .....	20
<b>2. Análise SWOT</b> .....	20
<b>2.1- Pontos Fortes</b> .....	20
2.1.1- Equipa da Farmácia Universal.....	20
2.1.2- Confiança depositada .....	21
2.1.3- Tecnologia ( <i>CashGuard</i> e <i>Robot</i> ).....	21
<b>2.2- Pontos Fracos</b> .....	22
2.2.1- Reduzida diversidade de tarefas .....	22
2.2.2- Medicamentos manipulados.....	22
2.2.3- Variedade de produtos e serviços .....	23
<b>2.3- Oportunidades</b> .....	23
2.3.1- Atendimento ao público.....	23

2.3.2- Dermocosmética.....	23
2.3.3- Contacto com diversos idiomas.....	24
<b>2.4- Ameaças.....</b>	<b>24</b>
2.4.1- Sortido e <i>stock</i> reduzidos.....	24
2.4.2- Conceito de medicamento genérico .....	25
<b>3. Considerações Finais.....</b>	<b>26</b>
<b>4. Referências Bibliográficas .....</b>	<b>27</b>
<b>5. Anexo .....</b>	<b>28</b>

## **Monografia | A Influência das Hormonas Sexuais no Desenvolvimento de Doenças Neurodegenerativas**

<b>Resumo .....</b>	<b>32</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>33</b>
<b>Lista de Abreviaturas.....</b>	<b>34</b>
<b>1- Introdução.....</b>	<b>36</b>
<b>2- Hormonas esteroides .....</b>	<b>37</b>
2.1- O cérebro como local de síntese de hormonas esteroides .....	37
2.2- Neurosteroidogénese .....	39
2.3- Mecanismos de sinalização das hormonas sexuais.....	41
2.4- O papel da aromatase na neuroproteção.....	43
2.5- Diferenças morfológicas e fisiológicas entre sexos .....	44
2.6- Diferenças sexuais nos níveis de esteroides neuroativos sob condições fisiológicas ...	46
2.7- Alterações hormonais relacionadas com a idade.....	46
<b>3- A Doença de Alzheimer .....</b>	<b>48</b>
3.1- Diferenças sexuais no desenvolvimento da Doença de Alzheimer .....	49
3.2- O papel das hormonas sexuais no controlo dos níveis cerebrais de Amiloide $\beta$ .....	51
3.2.1- Regulação da síntese de Amiloide $\beta$ pelas hormonas sexuais.....	51
3.2.2- Regulação do transporte de Amiloide $\beta$ pelas hormonas sexuais .....	52
3.2.3- Regulação da degradação e eliminação de Amiloide $\beta$ pelas hormonas sexuais ....	53
3.3- A ação das hormonas sexuais na regulação da fosforilação da proteína Tau.....	54
3.4- A terapia de substituição hormonal na Doença de Alzheimer .....	55
<b>4- Atrofia Muscular Bulbo-Espinal.....</b>	<b>57</b>
4.1- O papel da testosterona na Atrofia Muscular Bulbo-Espinal .....	58
<b>5- Impacto do uso de esteroides anabolizantes no processo neurodegenerativo</b>	<b>60</b>
<b>6- Desenvolvimento de novos fármacos esteroides .....</b>	<b>61</b>
<b>7- Conclusões e perspectivas futuras.....</b>	<b>62</b>
<b>Bibliografia .....</b>	<b>65</b>

# **Relatório de Estágio em Distribuição por Grosso de Medicamentos**

Plural - Cooperativa Farmacêutica, CRL

Sob orientação da

Dra. Olga Cristina Correia Simões

## **Lista de Abreviaturas**

**BPD** – Boas Práticas de Distribuição

**DT** – Diretor(a) Técnico(a)

**GAP** – Gabinete de Apoio Personalizado

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**SWOT** – Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades e Ameaças (do inglês *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*)



## **I. Introdução**

O plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), lecionado na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, permite-nos adquirir conhecimentos teóricos e práticos que serão consolidados durante a realização do Estágio Curricular, onde tais competências e conhecimentos adquiridos ao longo dos anos serão direcionados num contexto prático real.

Caminhando a passos largos para o término do MICF e, com isto, a entrada no mundo do trabalho e o efetivo exercício da profissão, a escolha da área e local da realização do Estágio Curricular revela-se uma importante decisão que, indiretamente, influenciará o rumo a seguir no futuro. A possibilidade de estagiar em distintas áreas profissionais inerentes ao circuito do medicamento surge como uma oportunidade para os estudantes de MICF da nossa instituição.

A Distribuição Farmacêutica é um setor profissional que constitui um elo de ligação entre a Indústria Farmacêutica e a Farmácia de Oficina, assegurando sempre o cumprimento das Boas Práticas de Distribuição (BPD). A área profissional da Distribuição por Grosso de Medicamentos suscitou-me interesse por ser uma área pouco abordada ao longo do plano curricular do MICF. Desta forma, para colmatar esta lacuna de conhecimento no que diz respeito à função do Farmacêutico no setor profissional da Distribuição Farmacêutica, decidi enveredar pela realização do meu Estágio Curricular na Plural - Cooperativa Farmacêutica, CRL, uma empresa sediada em Coimbra e com notoriedade crescente a nível nacional.

O presente relatório pretende descrever e fundamentar as atividades e funções desempenhadas bem como as competências adquiridas durante a realização do meu Estágio Curricular na Plural - Cooperativa Farmacêutica, CRL, decorrido entre os dias 11 de janeiro e 12 de março de 2021, com uma duração de 360 horas e sob orientação da Dra. Olga Simões. Este relatório foi elaborado no formato de análise SWOT (do inglês *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), abordando os pontos fortes e pontos fracos, as oportunidades e as ameaças identificadas durante o meu percurso no estágio.

## **2. Plural - Cooperativa Farmacêutica, CRL**

A Plural - Cooperativa Farmacêutica, CRL, é uma empresa Cooperativa de Distribuição Farmacêutica que conta já com mais de 46 anos de existência e que resultou da fusão de 3 cooperativas da região centro: a Cofarbel, Farcentro e Farbeira, tendo obtido a designação social de Plural no ano de 2008. Recentemente, no dia 8 de fevereiro de 2021, surge uma nova

identidade corporativa designada de Plural+Udifar, uma vez que o património material e imaterial da Udifar foi integrado no da Plural.<sup>1</sup> Com esta aquisição, a Plural+Udifar ganha maior dimensão e maior abrangência ao nível do território nacional, tornando-se, atualmente, a empresa nacional com maior quota de mercado no setor da Distribuição Farmacêutica.

A Plural+Udifar conta com várias plataformas logísticas de norte a sul do país permitindo uma maior proximidade com as mais de 1500 farmácias com que coopera. A principal missão é aprovisionar, armazenar e distribuir medicamentos e outros produtos de saúde aos cooperadores, nas melhores e mais adequadas condições, no mais curto espaço de tempo, em conformidade com as BPD.<sup>2</sup> Para além deste propósito, a Plural+Udifar conta ainda com a prestação de serviços Multipharma que visam oferecer soluções personalizadas e de qualidade a cada um dos seus clientes, de forma a responder às necessidades dos mesmos face às novas exigências do mercado.

### 3. Análise SWOT

<p style="text-align: center;"><b>Pontos Fortes</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Equipa de colaboradores;</li> <li>• Diversidade das tarefas desempenhadas;</li> <li>• Organização e automatismo do armazém;</li> <li>• Autonomia e confiança;</li> <li>• Dimensão da empresa;</li> <li>• Constante contextualização.</li> </ul>	<p style="text-align: center;"><b>Pontos Fracos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduzida aplicabilidade de conhecimentos científicos;</li> <li>• Visão do medicamento;</li> <li>• Impacto da pandemia.</li> </ul>
<p style="text-align: center;"><b>Oportunidades</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Extrapolação de conhecimentos para a Farmácia de Oficina;</li> <li>• Perceção do funcionamento logístico e de gestão.</li> </ul>	<p style="text-align: center;"><b>Ameaças</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Função do Farmacêutico no setor da Distribuição.</li> </ul>

**Figura I** - Resumo esquemático da análise SWOT relativo ao estágio na Plural+Udifar.

#### 3.1- Pontos Fortes

##### 3.1.1- Equipa de colaboradores

O pilar fundamental de qualquer empresa é o companheirismo e a união entre os seus colaboradores. Um dos principais pontos fortes que destaco do meu percurso na Plural+Udifar é, sem dúvida, o excelente ambiente de trabalho que se fazia sentir em cada uma das secções com que me cruzei. Desde o primeiro ao último momento, a forma amistosa e

integradora com que fui recebido permitiu-me chegar ao final de cada dia e ter força de vontade para no dia seguinte retomar mais um dia de estágio com grande satisfação. A existência de um bom espírito de equipa associada à impecável disponibilidade para responder às questões por mim colocadas foi determinante para o meu desempenho e para a minha aprendizagem durante todo o estágio.

### **3.1.2- Diversidade das tarefas desempenhadas**

O ponto mais positivo do plano de estágio foi a possibilidade de integrar cada uma das secções que está encarregue pelas distintas etapas do circuito do medicamento, desde o momento em que este é fornecido pela indústria farmacêutica até ao momento em que o mesmo é entregue a cada uma das farmácias e outras entidades de saúde autorizadas, bem como o processo logístico inverso. O meu estágio decorreu sobretudo ao nível do armazém logístico pelo que, a passagem pelas várias zonas do armazém, permitiu-me ter uma visão aprofundada de todo o processo logístico e de gestão subjacente ao circuito do medicamento e de outros produtos farmacêuticos.

Parte das funções que desempenhei iniciavam-se com a receção de mercadoria onde, após chegada da mercadoria ao cais, era feita a conferência do número de volumes. Depois disto, efetuava-se a conferência de cada um dos produtos atendendo sempre ao lote, preço, quantidade e validade, sendo que os medicamentos do frio são prioritários na receção e conferência para posterior armazenamento na câmara frigorífica. Segue-se o armazenamento (arrumação e reposição) dos produtos anteriormente conferidos, de acordo com a premissa do “*first expired, first out*” de forma que os produtos com menor prazo de validade/prazo de utilização sejam os primeiros a ser expedidos, permitindo assim uma boa gestão na rotação dos produtos.

A tarefa que diariamente executei foi o processamento das encomendas também designado de “*picking*”. Esta função permitiu-me perceber quais os medicamentos e outros produtos de saúde mais requisitados pelas farmácias. Para além desta função, foi na secção das Reclamações e na secção da Logística Inversa que passei a maior parte do estágio, tendo sido, sem dúvida, as operações que mais gostei de desempenhar.

Tive ainda a oportunidade de acompanhar uma das rotas de distribuição das encomendas de diferentes farmácias do concelho de Coimbra e Soure, permitindo-me verificar que as BPD são continuamente asseguradas durante todo o trajeto.

Para além de todas estas tarefas, foi-me possível contactar com outras áreas do armazém responsáveis pelo processo de Vendas Diretas, de gestão e faturação aos mais de 70 grupos de farmácias que a Plural+Udifar acompanha. Contactei com o Gabinete de Apoio Personalizado (GAP), onde se efetuam pedidos de encomendas por via telefónica, pedidos de informação relativos aos diversos produtos e aos serviços Multipharma, bem como acerca das campanhas elaboradas em parceria com os laboratórios. Adicionalmente, pude contactar com a secção do Apoio ao Cliente, responsável por proceder ao registo, análise e tratamento de reclamações. No GAP consegui ter uma visão geral das dúvidas e pedidos mais frequentemente efetuados pelos clientes, sendo que diariamente são atendidas mais de 1500 chamadas telefónicas. Por sua vez, no Apoio ao Cliente o número de telefonemas é bastante inferior, contabilizando em média 80 chamadas diárias.

A passagem por todas as etapas do percurso do medicamento dentro do armazém, permitiu-me adquirir ferramentas que serão uma mais-valia no futuro exercício da minha profissão.

### **3.1.3- Organização e automatismo do armazém**

A automatização do funcionamento interno do armazém permite evitar erros que facilmente poderiam surgir derivados de uma pequena distração. Graças ao automatismo implementado, diminuíram-se muitos dos erros sendo que, atualmente, os poucos que ocorrem são de natureza humana. A existência de um programa informático que permite uma gestão integrada do inventário, arrumação e recolha dos produtos na devida localização torna-se uma ferramenta muito valiosa em qualquer armazém logístico.

Grande parte das tarefas que desempenhei no armazém eram feitas com recurso a um aparelho de radiofrequência que auxiliava o processo de armazenamento (arrumação e reposição dos produtos) e o processamento de encomendas (“*picking*”). Este aparelho permite evitar erros de arrumação dos produtos nas devidas localizações, permite um correto aviamento dos produtos e permite o controlo em tempo integral do inventário. Desta forma, reduz-se o número de reclamações que nos chegam derivadas da troca entre produtos dos diferentes pedidos de farmácias. O acesso a este aparelho foi um dos pontos fortes do estágio, pois permitiu-me evitar erros de aviamento de produtos, sobretudo durante as horas mais agitadas do dia onde somos confrontados com centenas de encomendas em simultâneo.

### **3.1.4- Autonomia e confiança**

Desde o primeiro contacto, a grande confiança depositada em mim, enquanto estagiário, para a execução das diferentes tarefas constituiu, indubitavelmente, um dos pontos fortes do meu percurso. Ao nível da secção das Reclamações, em que constantemente lidamos com movimentação de valor sob a forma de notas de crédito para com os clientes, seria natural haver resistência por parte da empresa em permitir aos estagiários o acesso a este tipo de transações. No entanto, e para minha surpresa, sempre me foi permitido aceder e tomar a decisão acerca da creditação ou não de produtos devolvidos em contexto de reclamação. Como resultado, a confiança que me foi facultada desde o primeiro dia, permitiu-me adquirir autonomia para a realização de forma segura e motivada das diferentes funções.

### **3.1.5- Dimensão da empresa**

Com sede em Eiras (Coimbra), a Plural+Udifar possui nas suas recentes instalações, para além do armazém logístico, vários departamentos (Anexo I) que acabam por funcionar como serviços complementares de toda a operação. O facto da secção de Logística Inversa se encontrar centrado nestas instalações permitiu-me o contacto direto e a aquisição de conhecimentos relacionados com o processo de devolução de medicamentos e outros produtos farmacêuticos que carecem de devolução por vários motivos, nomeadamente: prazo de validade a expirar/expirado; danificados; lotes retirados do mercado; não conformidade de fabrico; alteração de preços ou alteração de cartonagem; processos estes que decorrem das farmácias para os respetivos laboratórios farmacêuticos, tendo como intermediário o distribuidor logístico. Este processo de devolução de produtos pode ainda decorrer entre a própria Plural+Udifar e os respetivos laboratórios, pelos motivos detalhados anteriormente.

A existência de instalações capazes de assegurar as medidas de prevenção da transmissão do novo vírus, associada à natureza das tarefas desempenhadas, possibilitou que o meu estágio decorresse inteiramente de forma presencial, impedindo, assim, que este se viesse a tornar um ponto fraco face ao contexto pandémico vivido.

Ao poder realizar o estágio na sede da empresa que coopera em sinergismo com as restantes plataformas logísticas do país, tive a perceção da complexidade da gestão e da logística subjacente a uma empresa destas dimensões, o que revelou ser um ponto bastante positivo.

### **3.1.6- Constante contextualização do funcionamento da empresa**

Durante o decorrer do meu estágio, tive oportunidade de reunir várias vezes com a Dra. Olga Simões. Em cada uma das reuniões, a Dra. Olga procedia à contextualização do funcionamento interno das operações da empresa o que se revelou bastante útil para a consolidação dos conhecimentos até então adquiridos. Adicionalmente foram-me apresentadas, pela Dra. Olga, grande parte das suas funções enquanto Diretora Técnica (DT) da plataforma logística de Coimbra, permitindo-me deste modo, ter uma visão mais alargada acerca das funções do DT numa empresa de Distribuição Farmacêutica.

## **3.2- Pontos Fracos**

### **3.2.1- Reduzida aplicabilidade de conhecimentos científicos**

As tarefas que desempenhei, por serem na sua essência de cariz logístico, prescindiram da aplicação de conhecimentos teóricos lecionados ao longo do meu percurso académico, daí que, a meu ver, este tenha sido o principal ponto fraco do estágio. Esta quase ausente necessidade de aplicar conhecimentos científicos na execução das diferentes funções, fez-me perceber que futuramente pretenderei exercer numa área profissional onde possa, de facto, poder dar uso aos conhecimentos que nos foram transmitidos ao longo do MICEF.

### **3.2.2- Visão do medicamento**

No contexto de um armazém logístico de Distribuição Farmacêutica, o medicamento perde em parte o seu propósito, passando a ser considerado apenas como mais uma embalagem que necessita de certas condições de conservação e armazenamento. A forma leviana com que os operadores de logística encaram o medicamento deve-se, sobretudo, ao elevado número de unidades que diariamente lhes passa pelas mãos aliado à necessidade do cumprimento das tarefas no mais curto espaço de tempo. Durante a execução das minhas tarefas, o facto de ter passado por mim um número tão avultado de unidades de medicamentos fez-me perceber que é real e inevitável a objetificação do medicamento contrariamente à realidade que nos é transparecida ao longo do curso. Desta forma, considero que esta percepção sobre o medicamento que se foi enraizando em mim ao longo do estágio, tenha constituído um ponto fraco.

### **3.2.3- Impacto da pandemia**

Em conformidade com as medidas de segurança estipuladas pelas Autoridades de Saúde e pelo Governo, a quase totalidade dos colaboradores dos diferentes departamentos da empresa encontrava-se em teletrabalho pelo que, não me foi possível passar pelos diferentes departamentos e adquirir, portanto, uma noção geral do trabalho que ali se efetua diariamente.

## **3.3- Oportunidades**

### **3.3.1- Extrapolação de conhecimentos para a Farmácia de Oficina**

O facto de ter contactado diretamente com um elevado número de referências de medicamentos e outros produtos farmacêuticos, possibilitou-me a familiarização com os nomes e embalagens dos muitos produtos com que me irei deparar no seguinte estágio em Farmácia de Oficina, transformando em oportunidade o ponto fraco supramencionado acerca da relativização do medicamento. Inclusive, tive a oportunidade de consultar folhetos informativos de medicamentos danificados, cujo destino é o abate, permitindo a entrada em contacto com as informações acerca do medicamento.

Adicionalmente, a minha passagem pela secção das Reclamações e Logística Inversa fez-me compreender o processo de resolução dos problemas que diariamente chegam até à empresa em contexto de devolução de produtos por parte das farmácias. Foram várias e, algumas até arduas, as reclamações que tive oportunidade de resolver, conferindo-me noções aprofundadas acerca do circuito inverso do medicamento. Pude ainda perceber a importância de existir uma boa gestão e controlo do inventário ao nível das farmácias de forma a evitar o acumular de produtos sem rotação ou com prazo de validade expirado, uma vez que os mesmos terão como destino o abate.

As competências aqui adquiridas constituirão uma ferramenta muito valiosa para mais facilmente compreender o funcionamento interno de uma farmácia pelo que, a minha passagem pela Plural+Udifar, revelou ser uma grande oportunidade no âmbito da minha formação profissional.

### **3.3.2- Percepção do funcionamento logístico e de gestão**

Embora ao longo do curso em unidades curriculares como Organização e Gestão Farmacêutica tenhamos abordado temas com uma componente mais voltada para a gestão, a verdade é que existe, em muitos de nós, alguma fragilidade no que toca à aplicação de conhecimentos relacionados com esta temática. A participação direta nas atividades da empresa permitiu-me observar o cumprimento das BPD e adquirir noções básicas relacionadas com a logística, gestão de recursos humanos e recursos materiais inerentes ao setor da Distribuição Farmacêutica. Como resultado, a minha passagem pela empresa proporcionou a consolidação dos conhecimentos lecionados em unidades curriculares do plano de estudos do MICF.

## **3.4- Ameaças**

### **3.4.1- Função do Farmacêutico no setor da Distribuição**

Segundo o regulamento aprovado pelo INFARMED, através da Deliberação n.º047/CD/2015, as funções de DT têm de ser exercidas por um Farmacêutico inscrito na Ordem dos Farmacêuticos.<sup>3</sup> As funções de um Farmacêutico, enquanto DT de um armazém grossista, passam sobretudo pelo assegurar do cumprimento das BPD, por garantir a aplicação e manutenção do Sistema de Gestão de Qualidade, por coordenar e garantir a contínua formação dos operadores de logística, entre outros. Maioritariamente, as funções do DT implicam experiência e conhecimentos relacionados com logística, gestão de recursos, análise financeira, coordenação de recursos humanos prescindindo, por outro lado, de conhecimentos científicos específicos da área do medicamento.

Para além deste requisito de enquadramento legal, não existe nenhuma outra função que exija ser assumida por um Farmacêutico, o que me fez chegar à conclusão de que o papel deste na área da Distribuição por Grosso de Medicamentos se encontra ameaçado. Assim sendo, torna-se difícil para um recém-farmacêutico enveredar na área da distribuição grossista de medicamentos uma vez que, as funções aqui desempenhadas prescindem dos conhecimentos abordados ao longo da sua formação académica, conduzindo, portanto, à desvalorização da profissão.



## 4. Considerações Finais

A possibilidade de estagiar na Plural+Udifar levou-me a conhecer de perto o funcionamento da área da Distribuição Farmacêutica e a sua importância como setor profissional promotor da saúde pública, que auxilia em todas as circunstâncias a atividade profissional desempenhada pelas farmácias.

É verdade que são poucos os cargos assumidos por Farmacêuticos no setor da distribuição no entanto, sendo este um profissional de saúde caracterizado pela vasta multidisciplinaridade, é de grande importância preservar o seu lugar neste setor, de forma a que se façam cumprir as condições de conservação, armazenamento e distribuição e, ainda, garantir o respeito pelo medicamento, de maneira a que este não seja visto como um mero produto garantido, mas sim como um bem essencial que a qualquer altura pode escassear.

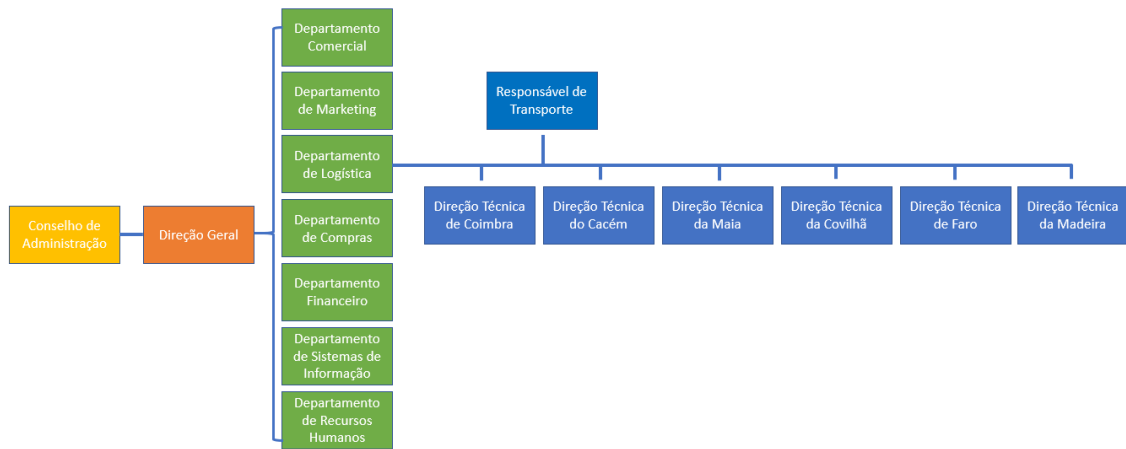
O estágio na Plural+Udifar revelou-se como uma excelente experiência no percurso da minha formação sendo que, o ponto mais positivo que destaquei foi o saber dar valor ao trabalho que é efetuado pelos armazéns logísticos, trabalho esse que muitas vezes é desvalorizado pelos próprios Farmacêuticos em contexto de Farmácia de Oficina. Para além de todos os conhecimentos e competências que adquiri, levo também na memória pessoas que conheci e que fizeram com que este estágio superasse as minhas expectativas. Decerto que todos estes ensinamentos me acompanharão ao longo do meu percurso.

## 5. Referências Bibliográficas

1. PLURAL - **A distribuição ganha novos caminhos com uma nova identidade: Plural+Udifar** - plural+udifar. [Acedido a 17/03/2021]. Disponível em: [https://www.plural.pt/noticias/info/a-distribuicao-ganha-novos-caminhos-com-uma-nova-identidade-pluraludifar\\_1610](https://www.plural.pt/noticias/info/a-distribuicao-ganha-novos-caminhos-com-uma-nova-identidade-pluraludifar_1610)
2. PLURAL - **Política e Missão** - plural+udifar. [Acedido a 17/03/2021]. Disponível em: [https://www.plural.pt/quem-somos/politica-e-missao\\_14](https://www.plural.pt/quem-somos/politica-e-missao_14)
3. INFARMED, I.P. - **Governo de Portugal. Deliberação n.º 047/CD/2015**. *Diário da República*. Lisboa: (2015). [Acedido a 17/03/2021]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/11048532.PDF/4bde6495-b33d-4311-8302-784be4a65971>

## 6. Anexo

### Anexo I: Organograma da Plural - Cooperativa Farmacêutica, CRL



**Relatório de Estágio em  
Farmácia Comunitária**  
Farmácia Universal

Sob orientação do

Dr. Pedro Miguel Lopes Baptista

## **Lista de Abreviaturas**

**DCI** – Denominação Comum Internacional

**MSRM** – Medicamento Sujeito a Receita Médica

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**SWOT** – Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades e Ameaças (do inglês *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*)

## **I. Introdução**

A Farmácia Comunitária caracteriza-se pela prestação de um amplo espectro de serviços à comunidade permitindo a acessibilidade ao medicamento e a prestação de cuidados de saúde de qualidade a todos os cidadãos. O Farmacêutico, enquanto agente de saúde pública especialista na área do medicamento, desempenha um importante papel na saúde e bem-estar dos utentes através da dispensa e aconselhamento sobre o uso correto de medicamentos e outros produtos de saúde bem como através da promoção da literacia em saúde.<sup>1</sup>

Dada a constante evolução na área do medicamento, o Farmacêutico deve percorrer a sua trajetória profissional a par de uma formação contínua, de forma a agir em conformidade perante as necessidades dos utentes.

O Estágio Curricular permite aos estudantes do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) consolidar e colocar em prática os conhecimentos teórico-práticos adquiridos ao longo dos anos de formação académica, transpondo-os para um contexto de realidade profissional.

O presente relatório pretende descrever e fundamentar as atividades desempenhadas bem como as competências adquiridas durante a realização do meu Estágio Curricular na Farmácia Universal, decorrido entre os dias 12 de abril e 29 de julho de 2021, sob orientação do Dr. Pedro Baptista. Este relatório foi elaborado no formato de análise SWOT (do inglês *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), abordando os pontos fortes e pontos fracos, as oportunidades e as ameaças identificadas durante o meu percurso no estágio.

## **2. Análise SWOT**

### **2.1- Pontos Fortes**

#### **2.1.1- Equipa da Farmácia Universal**

A equipa de colaboradores que constitui a Farmácia Universal e o bom ambiente de trabalho por ela gerado representou, sem dúvida, o principal ponto forte do meu percurso enquanto estagiário. Desde o primeiro momento, senti uma excelente integração por parte de todos os membros da equipa o que facilitou a minha aprendizagem e o gosto pelo exercício da profissão. O profissionalismo e a dedicação de cada um dos colaboradores da equipa permitiram-me adquirir competências a nível social e laboral, necessárias para a adequada interação com os utentes num contexto profissional.

A possibilidade de fazer parte desta equipa exemplar permitiu-me confirmar as minhas expectativas relativamente à atividade farmacêutica ao nível da Farmácia Comunitária. O bom ambiente de trabalho e o companheirismo existente na farmácia revelou-se fundamental para o sucesso do meu percurso enquanto estagiário.

### **2.1.2- Confiança depositada**

A confiança que a equipa da farmácia depositou em mim fez-se logo sentir no primeiro dia de estágio quando me foi dada a possibilidade de executar a função do atendimento ao público. Numa fase inicial, esta tarefa decorreu sempre com a supervisão de um dos membros da equipa, mas, prontamente, passei a desempenhar esta função de forma livre e autónoma o que demonstra a grande confiança por parte da equipa relativamente às minhas aptidões. A confiança em mim conferida permitiu-me manter motivado e seguro das minhas capacidades durante todo o período de estágio representando, assim, um dos principais pontos fortes do meu percurso.

### **2.1.3- Tecnologia (*CashGuard* e *Robot*)**

As recentes remodelações das instalações da farmácia permitiram a aquisição do *Robot*, um equipamento tecnológico destinado a armazenar e a distribuir medicamentos e outros produtos de saúde de forma rápida, rentável e automática.<sup>2</sup> Através de um simples pedido recorrendo à plataforma do *Sifarma 2000*<sup>®</sup>, o *Robot* consegue fazer chegar à zona de atendimento o produto pretendido de forma rápida e inequívoca. Este aspeto revelou ser um dos principais pontos fortes, uma vez que permitiu evitar trocas de produtos, que apresentam cartonagens muito idênticas, no momento de cedência ao utente. Para além disso, o facto de o produto requerido chegar até à zona do atendimento possibilita um maior tempo de contacto entre o Farmacêutico e o utente, permitindo uma melhor dinâmica durante o aconselhamento.

Adicionalmente, a existência do *CashGuard*, um aparelho tecnológico responsável por fazer a gestão automática do numerário decorrente das vendas efetuadas, constituiu um ponto bastante forte durante a realização do meu estágio. Este equipamento permite introduzir o numerário na forma de notas e moedas, efetuando, de forma rápida e sem erros, a devolução do troco das respetivas vendas, diminuindo eventuais erros e reforçando a segurança das transações. Este elemento permitiu-me efetuar o atendimento de uma forma mais segura e com o foco nas necessidades do utente.

## **2.2- Pontos Fracos**

### **2.2.1- Reduzida diversidade de tarefas**

Uma das lacunas do meu estágio prendeu-se pela reduzida diversidade das tarefas a desempenhar dentro da farmácia. Durante o meu percurso, apenas tive oportunidade de executar tarefas relacionadas com o atendimento ao público, particularmente a dispensa e aconselhamento de medicamentos e outros produtos de saúde e, ainda, a prestação de outros serviços ao utente, incluindo a determinação dos parâmetros bioquímicos e fisiológicos. Funções relacionadas com a receção e gestão das encomendas, controlo dos stocks e devolução de produtos às respetivas entidades, não fizeram parte da lista das minhas tarefas, talvez por existir um colaborador da equipa responsável por essas funções em particular. O trabalho de *backoffice* constitui uma importante etapa antes de iniciar o atendimento ao público, já que é durante esta fase que podemos contactar com os nomes comerciais e os diferentes laboratórios dos medicamentos. Embora eu não tenha passado por esta fase inicial, o meu percurso pela Plural+Udifar permitiu-me colmatar esta lacuna, pois deu-me importantes bases para iniciar com autonomia o atendimento ao utente.

### **2.2.2- Medicamentos manipulados**

Devido ao constante avanço tecnológico na área do medicamento e ao número crescente de apresentações farmacêuticas disponíveis no mercado, a preparação de medicamentos manipulados ao nível da Farmácia Comunitária tem vindo a diminuir progressivamente. No entanto, existem situações em que se justifica a sua preparação, nomeadamente nas situações em que se pretenda adaptar as dosagens e as formas farmacêuticas às populações alvo, nos casos em que existe intolerância a algum dos excipientes dos medicamentos industrializados ou perante a inexistência medicamentosa da associação de dois ou mais fármacos cuja administração se pretende concomitante.<sup>3</sup>

Apesar da Farmácia Universal possuir um laboratório totalmente renovado e dotado para a preparação de medicamentos manipulados, a escassa procura deste tipo de preparações por parte dos utentes levou a que se deixasse de proceder à sua preparação. Desta forma, considero este aspeto um ponto fraco durante o meu estágio por não ter oportunidade de preparar nenhum medicamento manipulado e colocar em prática os conhecimentos adquiridos em unidades curriculares como Farmácia Galénica e Tecnologia Farmacêutica.

### **2.2.3- Variedade de produtos e serviços**

O reduzido número de referências de produtos de ortopedia, puericultura e veterinária constituíram um ponto fraco do meu estágio. Foram vários os utentes que se mostraram interessados em adquirir este tipo de produtos, mas aos quais não foi possível dar resposta por inexistência dos mesmos. Este aspeto constituiu uma lacuna na minha aprendizagem relativamente a este tipo de produtos.

Adicionalmente, existe uma reduzida variedade de serviços farmacêuticos disponíveis. À exceção dos serviços de determinação dos parâmetros bioquímicos e fisiológicos (glicémia, colesterol total, pressão arterial, peso, altura e índice de massa corporal), serviços farmacêuticos como a Preparação Individualizada da Medicação (PIM), a preparação de medicamentos manipulados, a administração de medicamentos injetáveis, a realização de testes rápidos de antigénio (TRAg) não constam na lista dos serviços farmacêuticos prestados aos utentes da Farmácia Universal. Este aspeto constituiu, a meu ver, um ponto fraco ao desenvolvimento de novas competências que serão úteis no exercício da minha futura profissão.

## **2.3- Oportunidades**

### **2.3.1- Atendimento ao público**

Tal como referido anteriormente, as minhas tarefas ao longo de todo o estágio concentraram-se apenas no atendimento ao público. Embora eu tenha considerado este aspeto como sendo um ponto fraco, a verdade é que este se tornou, paralelamente, numa oportunidade. O facto de ter passado diariamente em contacto direto com os utentes permitiu-me experienciar diferentes situações ao nível do aconselhamento. Desta forma, o conhecimento e a experiência adquirida, dia após dia, proporcionaram-me valências necessárias para a execução de um aconselhamento seguro e com qualidade, essenciais ao exercício da atividade farmacêutica.

### **2.3.2- Dermocosmética**

A Farmácia Universal destaca-se pelo extenso número de referências de produtos dermocosméticos. A utilização deste tipo de produtos acompanha o dia-a-dia de qualquer cidadão e, por este motivo, tem-se verificado uma constante evolução na área da dermocosmética de forma a satisfazer os requisitos cada vez mais específicos dos utentes. A



existência de uma vasta gama de produtos dermocosméticos e a sua crescente procura por parte dos utentes permitiram fomentar o meu interesse por esta área, contribuindo positivamente para a minha aprendizagem.

### **2.3.3- Contacto com diversos idiomas**

Devido à sua localização numa das zonas de maior interesse turístico da cidade de Coimbra, a Farmácia Universal é visitada diariamente por turistas de diferentes países. Este ponto representou uma importante oportunidade, pois permitiu-me contactar com diferentes idiomas, incluindo o inglês, espanhol e francês. Apesar de nem sempre conseguir fornecer as explicações pretendidas, o facto de ser desafiado a comunicar em diferentes idiomas permitiu-me expandir o vocabulário de termos relacionados com a área da saúde. Desta forma, a interação com os vários turistas estrangeiros constituiu uma ótima experiência na superação de desafios impostos pelas diferentes línguas.

## **2.4- Ameaças**

### **2.4.1- Sortido e stock reduzidos**

O sortido pode definir-se como o conjunto e respetiva variedade de artigos existentes à disposição do público que permitem ir ao encontro dos seus interesses e necessidades. São vários os fatores que determinam o sortido existente na farmácia, incluindo a sua localização e dimensão, o tipo de público-alvo, a concorrência existente, entre outros. A seleção do sortido é decisiva para marcar a diferença entre farmácias. Uma das ameaças sentidas ao longo do estágio foi o reduzido sortido de muitos medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) que, por não serem usualmente procurados pelos utentes habituais, não constam no inventário da farmácia. Esta situação de ausência de produtos leva a que, quando procurados por utentes externos à farmácia, conduza a um certo descontentamento por parte dos mesmos. Aliado ao restrito sortido, também o *stock* de MSRM apresenta um número reduzido, fazendo com que, muitas das vezes, os utentes não conseguissem adquirir as quantidades pretendidas. A associação destes aspetos representou, portanto, uma ameaça durante a execução do atendimento no sentido em que muitos utentes se mostravam totalmente insatisfeitos, responsabilizando indevidamente o Farmacêutico que lhes prestara atendimento.

## 2.4.2 - Conceito de medicamento genérico

De acordo com o Decreto-Lei n.º176/2006, de 30 de agosto, um medicamento genérico é definido como sendo um medicamento com a mesma composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas, a mesma forma farmacêutica e a mesma indicação terapêutica que o medicamento inovador que lhe serviu de base e cuja bioequivalência foi demonstrada por estudos de biodisponibilidade adequados.<sup>4</sup>

A prescrição pela denominação comum internacional (DCI) confere ao utente a possibilidade de optar, com base na sua preferência, pelo medicamento inovador ou pelo medicamento genérico. Em muitas situações expliquei o conceito de medicamento genérico, no entanto senti que, atualmente, o termo “genérico” é ainda visto por muito utentes como algo associado a baixa qualidade e desprovido de grande eficácia. A explicação pode estar, em parte, associada ao facto de erradamente se designar o medicamento inovador por “medicamento de marca” o que leva a crer que este possui melhores características face ao medicamento genérico. Considero que a substituição do termo “medicamento de marca” por medicamento de referência ou medicamento inovador, possa melhorar a compreensão do conceito e facilitar a posterior aceitação dos medicamentos genéricos por parte dos utentes.

Considero ainda que a promoção da utilização de medicamentos genéricos constitui um papel importante na promoção da adesão à terapêutica quando a não adesão está relacionada com questões económico-financeiras, bem como um papel crucial no acesso à inovação por permitir redirecionar as poupanças das participações geradas para a área do desenvolvimento de novos medicamentos. O Farmacêutico desempenha, por isso, um papel fundamental na promoção da literacia em saúde e na compreensão de temáticas como a descrita.

### **3. Considerações Finais**

A Farmácia Comunitária, por ser um local de saúde de fácil acesso à população, constitui, muitas vezes, a primeira escolha dos utentes em situações de necessidade relacionadas com a saúde e o bem-estar. O Farmacêutico, enquanto profissional multivalente, desempenha um papel crucial na educação e na promoção da saúde dos utentes.

O estágio em Farmácia Comunitária revelou ser uma etapa imprescindível e bastante enriquecedora da minha aprendizagem. Para além de me ter permitido consolidar e aplicar os conhecimentos teórico-práticos adquiridos ao longo dos anos da minha formação, fez-me perceber a dimensão dos desafios e da responsabilidade que a profissão farmacêutica acarreta. Nem todas as situações são fáceis e, muitas vezes, somos confrontados com situações constrangedoras e desrespeitosas. O estágio curricular permite-nos, portanto, aprender a gerir todo o tipo de situações relacionadas com o atendimento ao público, proporcionando-nos não só experiências laborais como também experiências sociais.

A concretização com sucesso desta excelente etapa do meu percurso académico deve-se a todos os valores, aprendizagem, companheirismo e amizade que a equipa da Farmácia Universal me transmitiu. Todos estes conhecimentos servirão de base e acompanhar-me-ão no futuro exercício da minha profissão.

#### 4. Referências Bibliográficas

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **A Farmácia Comunitária** [Acedido a 15/08/2021]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. BD ROWA™ - **Dispensing robots & digital selling solutions**. [Acedido a 15/08/2021]. Disponível em: <https://rowa.de/en/>
3. INFARMED, I.P. - **Medicamentos manipulados**. [Acedido a 15/08/2021] Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/inspecao-medicamentos/medicamentos-manipulados>
4. INFARMED, I.P. - **Medicamentos genéricos** - [Acedido a 15/08/2021]. Disponível em: [https://www.infarmed.pt/web/infarmed/perguntas-frequentes-area-transversal/medicamentos\\_uso\\_humano/genericos](https://www.infarmed.pt/web/infarmed/perguntas-frequentes-area-transversal/medicamentos_uso_humano/genericos)
5. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - ADT® 25 mg**. [Acedido a 18/08/2021]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
6. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - Laevolac® 666.7 mg/mL xarope**. [Acedido a 18/08/2021]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
7. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - Procto-Glyvenol®**. [Acedido a 18/08/2021]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
8. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - Daflon® 1000 mg**. [Acedido a 18/08/2021]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
9. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - Daktarin® gel oral**. [Acedido a 18/08/2021]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>

## 5. Anexo

### Casos Práticos

#### Caso I: Causa secundária de obstipação

Uma senhora de 53 anos dirige-se à farmácia reportando estar com prisão de ventre há cerca de uma semana. A senhora refere que nos últimos dias tem tido bastante dificuldade em evacuar solicitando, portanto, uma embalagem de Dulcolax<sup>®</sup>. De forma a perceber o motivo que causou o estado de obstipação, questionei-a relativamente à recorrência desta situação, ao que me responde tratar-se de um episódio pontual muito recente. Perguntei-lhe se procedeu a alguma alteração na alimentação respondendo não ter havido nenhuma mudança nos hábitos alimentares. Posto isto, questionei-a acerca da sua atual medicação, ao que responde estar a tomar o medicamento para a hipercolesterolemia e “um medicamento novo que o médico receitou para não andar tão em baixo”. Retirou de imediato a guia de tratamento do utente que tinha consigo na carteira de forma a mostrar-me o medicamento em questão. Verifiquei, então, tratar-se do ADT<sup>®</sup>, um antidepressivo tricíclico indicado no tratamento de estados depressivos e que, devido às suas propriedades anticolinérgicas, apresenta efeitos secundários, incluindo obstipação, xerostomia, visão turva, olho seco, náuseas, entre outros.<sup>5</sup>

Tendo em conta o descrito, alertei a senhora de que este medicamento em particular pode provocar, sobretudo na fase inicial do tratamento, episódios de obstipação, justificando o aparecimento deste sintoma. Alertei-a para a necessidade de proceder à toma do medicamento de acordo com o prescrito pelo médico, de forma a minimizar o aparecimento de efeitos secundários. Com o objetivo de resolver a situação que levou a senhora à farmácia, recomendei a toma de Laevolac<sup>®</sup> 666,7 mg/mL xarope (1 a 2 medidas por dia) em detrimento do Dulcolax<sup>®</sup> que, por se tratar de um laxante de contacto, pode causar cólicas, desequilíbrios hidroeletrólíticos, hipotonia intestinal, entre outros. O Laevolac<sup>®</sup> 666,7 mg/mL xarope, cujo princípio ativo é a lactulose, insere-se no grupo dos laxantes osmóticos que conduzem ao aumento da fluidez das fezes por aumento do fluido fecal, facilitando, assim, a defecação.<sup>6</sup> Reforcei a importância da ingestão aumentada de água durante o tratamento com o laxante osmótico e apelei para o cumprimento de medidas não farmacológicas, incluindo a reeducação do intestino, a ingestão de alimentos ricos em fibra, a importância da manutenção de atividade física e a importante ingestão diária de líquidos.

## **Caso II: Crise hemorroidária**

Um senhor com cerca de 40 anos de idade dirige-se à farmácia reportando estar perante uma crise hemorroidária há cerca de 3 dias. Como tal, pretende comprar uma embalagem de Proctorrane<sup>®</sup>, uma pomada retal que usou no ano passado e que resolvera a anterior situação hemorroidária. Questionei o senhor quanto aos sintomas associados ao que responde ter pequenas hemorragias devido a fissuras na região anal, sobretudo no momento de defecação. Para além disso, diz apresentar alguma dor e prurido. Questionei-o, ainda, acerca de uma possível alteração dos hábitos alimentares nos últimos dias e que pudessem estar na causa desta crise hemorroidária ao que responde ter ingerido comidas mais condimentadas na última semana, durante o seu período de férias. Apesar disso, reportou não apresentar obstipação.

Posto isto, aconselhei o senhor a recorrer a uma pomada retal que não o Proctorrane<sup>®</sup>, uma vez que, por se tratar de uma pomada contendo um corticosteroide tópico como a hidrocortisona, pode atrasar o processo de cicatrização das fissuras anais, devido aos possíveis efeitos de atrofia da pele e da mucosa. Aconselhei-o, então, a utilizar Procto-Glyvenol<sup>®</sup> (2 vezes por dia), uma pomada retal constituída por tribenosido que reduz a permeabilidade capilar, aumenta o tónus vascular e apresenta ação anti-inflamatória local, e, por cloridrato de lidocaína, um anestésico local que permite obter o alívio da dor e do prurido causado pelas hemorroidas.<sup>7</sup> De forma a evitar o aparecimento de infeções ao nível das fissuras anais, recomendei proceder à lavagem da região anal com uma solução cutânea de iodopovidona. Associado a estas medidas, sugeri a toma de Daflon<sup>®</sup> 1000 mg (crise hemorroidária: durante os primeiros 4 dias tomar 1 comprimido 3 vezes ao dia; nos 3 dias seguintes tomar 1 comprimido 2 vezes ao dia; manutenção de 1 comprimido por dia) cuja composição em bioflavonoides com ação venotrópica proporcionam a diminuição do prolapso retal por redução da distensibilidade e da estase venosa e por normalização da permeabilidade e reforço da resistência capilar.<sup>8</sup>

Por fim, incuti a necessidade de proceder a medidas não farmacológicas incluindo, a ingestão de alimentos ricos em fibra, o aumento da ingestão de líquidos, a privação de comida muito condimentada/ácida/picante e a lavagem da zona anal com água fria 2 a 3 vezes por dia.

### **Caso III: Interação medicamentosa**

Uma senhora de 59 anos dirige-se à farmácia para levantar medicamentos presentes em receitas eletrónicas. Durante a dispensa dos medicamentos surge um alerta gerado pela plataforma *Sifarma 2000*<sup>®</sup> respeitante a uma interação medicamentosa entre o *Daktarin*<sup>®</sup> gel oral (substância ativa: miconazol) e a sinvastatina. Quando administrados concomitantemente, o miconazol oral conduz ao aumento dos níveis plasmáticos de sinvastatina por inibição potente da CYP450 3A4, a enzima responsável pelo metabolismo da molécula de sinvastatina. Neste sentido, a utilização concomitante destes fármacos deve ser efetuada com o máximo de precaução de forma a evitar o aparecimento de efeitos adversos.

Com o objetivo de perceber se esta prescrição teve em conta o historial farmacoterapêutico da utente, questionei a senhora de forma a averiguar se o médico em questão teve conhecimento desta situação. A senhora responde o seguinte: “o médico disse-me que era preciso cuidado nestes dias em que estou a tomar o medicamento para a candidíase, mas não me explicou porquê!”. Percebi, então, que o médico estava a par desta interação medicamentosa. Informei a senhora de que a toma concomitante destes fármacos pode conduzir a toxicidade musculoesquelética, traduzida em dor e fraqueza muscular e fadiga. Desta forma, alertei-a para a necessidade de cumprir o regime posológico do tratamento da candidíase orofaríngea com *Daktarin*<sup>®</sup> gel oral (2,5 mL de gel, 4 vezes ao dia a seguir às refeições, mantendo o gel o máximo de tempo na cavidade oral e só depois engolir)<sup>9</sup> e para a necessidade de estar atenta aos possíveis sintomas ao nível muscular que possam surgir.

# **Monografia**

## **“A Influência das Hormonas Sexuais no Desenvolvimento de Doenças Neurodegenerativas”**

Sob orientação do

Professor Doutor Luís Miguel Santos Loura



## **Resumo**

As hormonas sexuais são responsáveis por coordenar o desenvolvimento e a manutenção da arquitetura tecidual de vários órgãos, incluindo os do Sistema Nervoso Central. Atualmente, reconhece-se o papel do cérebro na biossíntese de hormonas esteroides que, em colaboração com as hormonas sexuais de origem periférica, desencadeiam efeitos neuroprotetores, contribuindo assim para a homeostase neuronal. Nos últimos anos, tem vindo a crescer a evidência de que as hormonas sexuais, frequentemente em associação com a neuroinflamação, apresentam um impacto considerável na ocorrência e na severidade de doenças neurodegenerativas. Este tipo de doenças é caracterizado pela existência de diferenças na prevalência e progressão em ambos os sexos, remetendo para a influência das hormonas sexuais no distinto desenvolvimento destas patologias. As hipóteses mais proeminentes que visam explicar estas desigualdades são as diferenças existentes ao nível da neurosteroidogénese e a diferença considerável do período, extensão e duração do declínio das hormonas esteroides ao longo da vida em cada um dos sexos. Nesta revisão, são apresentadas as diferenças sexuais e a influência das hormonas esteroides no desenvolvimento da Doença de Alzheimer e da Atrofia Muscular Bulbo-Espinal. A compreensão dos mecanismos responsáveis por estas diferenças auxiliará no desenvolvimento de terapias mais direcionadas e com um melhor desempenho relativamente às atuais abordagens terapêuticas.

**Palavras-chave:** hormonas sexuais, neurosteroides, diferenças sexuais, Doença de Alzheimer, Atrofia Muscular Bulbo-Espinal.

## **Abstract**

Sex hormones are responsible for coordinating the development and maintenance of tissue architecture of various organs, including those of the Central Nervous System. Currently, the role of the brain is recognized in the biosynthesis of steroid hormones which, together with sex hormones of peripheral origin, trigger neuroprotective effects, thus contributing to neuronal homeostasis. In recent years, there has been growing evidence that sex hormones, often in association with neuroinflammation, have a considerable impact on the occurrence and severity of neurodegenerative diseases. This type of disease is characterized by the existence of differences in prevalence and progression in both sexes, pointing to the influence of sex hormones in the distinct development of these pathologies. The most prominent hypotheses that aim to explain these dissimilarities are the differences at the level of neurosteroidogenesis and the considerable difference in the period, extension, and duration of the decline of steroid hormones throughout life in each of the sexes. In this review, sex differences and the influence of steroid hormones on the development of Alzheimer's Disease and Spinal and Bulbar Muscular Atrophy are presented. Understanding the mechanisms responsible for these differences will help to develop more targeted therapies that perform better than current therapeutic approaches.

**Keywords:** sex hormones, neurosteroids, sex differences, Alzheimer's Disease, Spinal and Bulbar Muscular Atrophy.

## Lista de Abreviaturas

- 17 $\beta$ -E2** – 17 $\beta$ -estradiol
- 17 $\beta$ -HSD** – 17 $\beta$ - Hidroxiesteroide Desidrogenase
- 3xTG-AD** – modelo de rato transgénico DA triplo
- 3 $\beta$ -HSD** – 3 $\beta$ - Hidroxiesteroide Desidrogenase
- AKT** – Proteína Cinase B
- APOE** – Apolipoproteína E
- APOE $\epsilon$ 4** – Alelo  $\epsilon$ 4 do gene que codifica para a Apolipoproteína E
- APP** – Proteína Percursora Amiloide
- AR** – Recetores dos Androgénios
- ArKO** – *Knockout* para a aromatase
- ARpoliQ** – Recetor de Androgénios com a expansão de poliglutaminas
- A $\beta$**  – Proteína Amiloide  $\beta$
- BACE** –  $\beta$ -secretase ( *$\beta$ -site APP-cleaving enzyme I*)
- BHE** – Barreira Hematoencefálica
- BSMA** – Atrofia Muscular Bulbo-Espinal
- CAG** – Citosina-Adenina-Guanina
- CDK5** – Cinase 5 dependente da Ciclina
- DA** – Doença de Alzheimer
- DHEA** – Dehidroepiandrosterona
- DHT** – Di-hidrotestosterona
- DNA** – Ácido Desoxirribonucleico
- dsEAA** – Doses Suprafisiológicas de Esteroides Androgénicos Anabolizantes
- EAA** – Esteroides Androgénicos Anabolizantes
- ER** – Recetor de Estrogénio
- ERE** – Elementos Responsivos do Estrogénio
- FSH** – Hormona Folículo-Estimulante
- GABA** – Ácido Gama-Aminobutírico
- GDX** – Orquiectomia
- GnRH** – Hormona Libertadora de Gonadotrofinas
- GPER** – Recetores de Estrogénio Acooplados à Proteína G
- GSK3 $\beta$**  – Cinase 3 $\beta$  da Glicogénio Sintase

**IDE** – Enzima Degradante da Insulina  
**LCR** – Líquido Cefalorraquidiano  
**LH** – Hormona Luteinizante  
**MAPK/ERK** – Cinase Proteica Ativada por Mitogénio  
**mPR** – Recetores Membranares da Progesterona  
**NEP** – Neprilisina  
**NFT** – Novelos Neurofibrilares  
**OVX** – Ovariectomia  
**P450scc** – Enzima do Citocromo P450 de clivagem da cadeia lateral do colesterol  
**PI3K** – Fosfatidilinositol-3-cinase  
**poliQ** – poliglutaminas  
**PP2A** – Proteína Fosfatase 2A  
**PR** – Recetor da Progesterona  
**RE** – Retículo Endoplasmático  
**sAPP $\alpha$**  – Proteína Percursora Amiloide  $\alpha$  solúvel  
**sAPP $\beta$**  – Proteína Percursora Amiloide  $\beta$  solúvel  
**SARM** – Moduladores Seletivos dos Recetores de Androgénios  
**SERM** – Moduladores Seletivos dos Recetores de Estrogénios  
**SNC** – Sistema Nervoso Central  
**SNP** – Sistema Nervoso Periférico  
**StAR** – Proteína de Regulação Aguda da Esteroidogénese  
**T** – Testosterona  
**THS** – Terapia Hormonal de Substituição  
**TSPO** – Proteína de Translocação  
**TTR** – Transtirretina

## I- Introdução

O prolongamento da esperança média de vida tem trazido vários desafios à comunidade científica, com a idade a contribuir, negativamente, para o crescente aparecimento de doenças associadas à degeneração neuronal. As doenças neurodegenerativas constituem um vasto grupo de condições neurológicas caracterizadas pela perda progressiva de neurónios tanto a nível cerebral como ao nível da espinal medula. O processo neurodegenerativo apresenta frequentemente uma progressão acelerada e uma perda irreversível das funções cognitivas e motoras.<sup>1</sup>

Ao longo dos últimos anos, tem-se tornado evidente que as hormonas sexuais, paralelamente com a neuroinflamação, apresentam um impacto profundo na prevalência e na severidade de doenças neuropsiquiátricas e neurodegenerativas. As hormonas esteroides influenciam a morfologia, a fisiologia e o comportamento do organismo através de uma variedade de efetores, dos seus recetores específicos e de uma complexa rede de sinalização intracelular.<sup>2</sup>

Atualmente, sabe-se que a síntese de hormonas sexuais não ocorre apenas ao nível das gónadas, tendo-se demonstrado que o cérebro, para além de ser alvo da ação das hormonas esteroides, tem também a capacidade de as biossintetizar através de um processo designado de neurosteroidogénese.<sup>3</sup> A biossíntese de hormonas sexuais está alterada durante o desenvolvimento embrionário e a puberdade, flutua, no caso do sexo feminino, com os ciclos reprodutivos e decai abruptamente durante a menopausa.<sup>4</sup> As diferenças registadas na neurosteroidogénese e o distinto declínio dos níveis de hormonas esteroides em cada um dos sexos podem explicar, em parte, as diferenças sexuais no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, particularmente na Doença de Alzheimer (DA).<sup>5,6</sup>

Embora vários estudos estejam focados na compreensão dos processos neuroinflamatórios na patogénese de doenças neurológicas, muito poucos têm sido realizados com o intuito de perceber a forma como estes variam entre sexos<sup>5</sup> e a forma como a eficácia clínica das terapias existentes se encontra modificada pelas diferenças sexuais. De facto, o sexo é raramente tido em conta aquando da tomada de decisão do tratamento a adotar.<sup>1</sup> Assim, o entendimento do papel das hormonas esteroides, em cada um dos sexos e sob condições fisiológicas, torna-se fundamental para desvendar as interações complexas entre os sistemas hormonal e neuronal, de maneira a possibilitar o desenvolvimento de terapêuticas responsáveis por manter e restaurar as funções neuronais.<sup>7</sup>

## 2- Hormonas esteroides

### 2.1- O cérebro como local de síntese de hormonas esteroides

As hormonas esteroides são responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção do sistema reprodutivo masculino e feminino bem como outros sistemas do organismo, incluindo o sistema nervoso, digestivo, esquelético, metabólico e imunitário.<sup>2</sup>

As hormonas esteroides coordenam o desenvolvimento e manutenção da arquitetura dos tecidos de vários órgãos, nomeadamente órgãos do Sistema Nervoso Central (SNC).<sup>2</sup> Devido à sua natureza lipofílica, os esteroides circulantes atravessam prontamente a barreira hematoencefálica (BHE) atingindo as células alvo do SNC por difusão, exercendo aí a sua ação. Por esta razão, os esteroides periféricos são também designados de esteroides neuroativos.<sup>8</sup> Dentro do SNC, as hormonas sexuais são responsáveis pela morfologia, fisiologia e pelo comportamento e função de uma grande variedade de células neuronais, das quais se destacam os neurónios, células da glia, células do sistema imunitário e ainda células endoteliais.<sup>2,6</sup> Espacial e temporalmente, as hormonas esteroides controlam distintas redes moleculares envolvidas na modulação da atividade neuronal, expressão e função de fatores de crescimento, plasticidade sináptica, trocas de nutrientes, proliferação e sobrevivência celular e, ainda, apoptose.<sup>2</sup>

As gónadas (ovários e testículos), glândulas adrenais e a placenta são as glândulas endócrinas esteroidogénicas mais representativas no organismo. No entanto, existem outros órgãos com esta atividade, incluindo o tecido ósseo, o tecido adiposo e o cérebro.<sup>4</sup> O cérebro não é apenas alvo das hormonas sexuais, mas também um local capaz de sintetizar hormonas esteroides *de novo*,<sup>3,4</sup> sendo, desta forma, considerado um órgão esteroidogénico, à semelhança dos tecidos do Sistema Nervoso Periférico (SNP).<sup>9</sup> Inicialmente, pressupôs-se que a biossíntese de neurosteroides estaria restrita apenas a algumas células da glia. Porém, sabe-se agora que a sua biossíntese ocorre adicionalmente ao nível dos astrócitos, dos neurónios do hipocampo, do cerebelo e da glândula pineal.<sup>9</sup>

Às hormonas esteroides sintetizadas no sistema nervoso central e periférico é atribuída a designação de neurosteroides.<sup>10</sup> Os neurosteroides são moléculas endógenas chave ao nível do cérebro, participando na coordenação de inúmeras funções neuronais, sendo, por isso, considerados moléculas neuroativas.<sup>11</sup> O termo esteroide neuroativo é usado na literatura para se referir aos esteroides que apresentam atividade ao nível do sistema nervoso, independentemente de terem origem nas hormonas periféricas, de serem neurosteroides ou

análogos sintéticos dos esteroides.<sup>4,9</sup> É admitido até à data que os neurosteroides e os esteroides derivados dos tecidos periféricos apresentem efeitos indistinguíveis no SNC.<sup>8</sup>

Os neurosteroides estão envolvidos no controlo de vários processos neurobiológicos, incluindo a memória, a aprendizagem, a cognição, o comportamento sexual, a resposta ao stress e ansiedade, o controlo da agressividade e depressão, a regulação da temperatura corporal e da pressão arterial, entre outros.<sup>4,12</sup>

Diversos neurosteroides pertencentes a diferentes classes, nomeadamente a classe dos pregnanos, androstanos e respetivos neurosteroides sulfatados, são sintetizados a nível cerebral,<sup>6</sup> incluindo a pregnenolona e o sulfato de pregnenolona, a progesterona, a alopregnenolona, a dehidroepiandrosterona (DHEA) e o sulfato de dehidroepiandrosterona, a desoxicorticosterona e a tetrahydrodesoxicorticosterona.<sup>13</sup> Contudo, as principais hormonas esteroides pertencem ao grupo dos estrogénios e androgénios devido à sua síntese ser mais pronunciada no sexo feminino e masculino, respetivamente.<sup>2</sup>

Os três principais tipos endógenos de estrogénios são a estrona, o 17 $\beta$ -estradiol (17 $\beta$ -E2), mais frequentemente conhecido como estradiol, e o estriol, sendo que a forma circulante mais prevalente corresponde ao 17 $\beta$ -E2. A via primária da biossíntese do estradiol ocorre por intermédio do seu precursor, a estrona, que por sua vez é sintetizada a partir da androstenodiona, produzida nos ovários.<sup>2</sup> O estradiol é tanto uma hormona periférica como um neurosteróide que atua como fator autócrino ou parácrino estando, sob condições fisiológicas, envolvido na regulação da plasticidade sináptica, na neurogénese, na cognição, no controlo do comportamento e do processo de dor.<sup>4</sup>

A testosterona (T) e a androstenodiona são androgénios sintetizados primariamente pelas células de Leydig presentes nos testículos e ainda pela zona reticular e zona fasciculada do córtex suprarrenal de ambos os sexos.<sup>2</sup> Tal como os estrogénios, também os androgénios são responsáveis por promover a cognição, a proteção das células neuronais e a plasticidade sináptica.<sup>12</sup>

Os progestagénios são outra classe relevante de hormonas sexuais na qual se inclui a progesterona. No sexo feminino, a progesterona é produzida primariamente no corpo lúteo dos ovários bem como na placenta, enquanto no sexo masculino, esta hormona é sobretudo produzida ao nível dos testículos e das glândulas suprarrenais.<sup>13</sup> Para além da produção gonadal e adrenal, a síntese de progesterona foi observada em várias áreas do SNC, nomeadamente na glândula pineal, no tálamo e no cerebelo.<sup>6</sup>

Tanto as hormonas esteroides sintetizadas a nível cerebral como aquelas que provêm da síntese periférica são de grande importância no que diz respeito às funções desempenhadas pelo hipocampo. O rápido efeito dos neurosteroides a nível cerebral deve-se a uma complexa rede de cinases que modulam as funções do hipocampo, incluindo a espinogénese e sinaptogénese, a aprendizagem e a memória.<sup>3</sup>

Estudos recentes confirmaram que os níveis de hormonas esteroides no hipocampo de ratos adultos fêmea flutuam ao longo do ciclo do estro.<sup>3</sup> Adicionalmente, comprovou-se que a biossíntese de neurosteroides é necessária durante os períodos em que a concentração plasmática de hormonas esteroides se encontra baixa, nomeadamente para compensar os baixos níveis periféricos de progesterona no sexo masculino e, por outro lado, compensar as flutuações dos níveis de esteroides durante o estro.<sup>9</sup> Desta forma, podemos inferir que a neurosteroidogénese é regulada independentemente da esteroidogénese periférica e que os níveis plasmáticos de esteroides não refletem diretamente os níveis cerebrais de esteroides,<sup>4</sup> já que em estudos onde se procedeu à ovariectomia de ratos fêmea e à orquiectomia de ratos macho, houve uma adaptação específica da produção de neurosteroides em resposta à privação de esteroides gonadais.<sup>14</sup> Para além disso, sabe-se que a concentração de certos esteroides, incluindo o estradiol, a testosterona e a di-hidrotestosterona (DHT), é muito superior na região do hipocampo quando comparada com a concentração periférica circulante.<sup>3,9</sup>

## **2.2- Neurosteroidogénese**

Como referido anteriormente, os níveis de hormonas esteroides no SNC/SNP são resultado da atividade gonadal e adrenal bem como da síntese e metabolismo local de hormonas sexuais e outras hormonas neuroativas ao nível do sistema nervoso, processo este denominado de neurosteroidogénese.<sup>7,12</sup> De uma forma geral, os neurosteroides são sintetizados pelos mesmos mecanismos envolvidos na produção das hormonas esteroides periféricas,<sup>9</sup> sendo que, a nível cerebral, estão presentes todas as enzimas necessárias para a neurosteroidogénese e para a conversão das hormonas periféricas primárias nos seus metabolitos ativos.<sup>3,6,11</sup>

As células de Schwann, responsáveis pela mielinização dos neurónios do SNP, expressam igualmente as enzimas relevantes para a síntese de neurosteroides, ao passo que a evidência científica nos mostra que os níveis de progesterona no interior destas células sejam cerca de dez vezes superiores aos encontrados no plasma. Como tal, todas as células

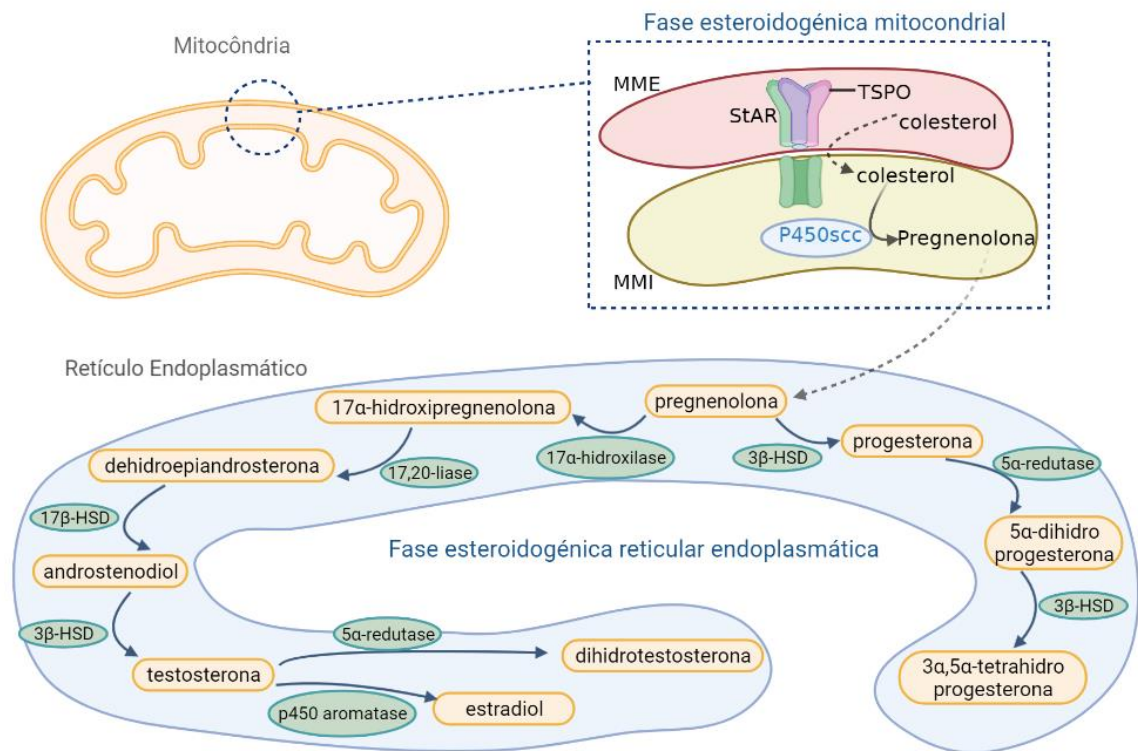


mielinizantes estão dotadas de capacidade esteroidogénica que, por sua vez, constitui uma etapa crítica no próprio processo de mielinização.<sup>15</sup>

A neurosteroidogénese é resultado de uma interação coordenada entre as células da glia e os neurónios<sup>7</sup> de várias regiões cerebrais, destacando-se a região do hipocampo, do córtex, do hipotálamo e do cerebelo por apresentarem maior atividade esteroidogénica.<sup>8,11</sup> Ao nível dos astrócitos são sintetizadas a pregnenolona, a progesterona, a DHEA, a androstenodiona, o estradiol, a estrona e a testosterona. Os oligodendrócitos produzem pregnenolona, progesterona e androstenodiona. A microglia tem capacidade para metabolizar androgénios e estrogénios e converter a DHEA em estradiol. Porém, não possui as enzimas necessárias para sintetizar progesterona nem DHEA. Por fim, os neurónios conseguem produzir pregnenolona, androstenodiona, DHEA e estrogénios.<sup>8</sup>

Dentro das células, a mitocôndria desempenha o papel fulcral na biossíntese de esteroides, já que é neste organelo que se iniciam os primeiros passos da esteroidogénese.<sup>9,16</sup> Desta forma, é de esperar que o declínio da função mitocondrial, induzido pela idade, possa modificar só por si os níveis de esteroides no organismo.<sup>16</sup>

O colesterol é a molécula precursora de todas as hormonas esteroides,<sup>16</sup> estando presente no interior das células através da endocitose das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) ou da própria biossíntese ao nível do retículo endoplasmático (RE).<sup>9</sup> A neurosteroidogénese começa com a transferência da molécula de colesterol da membrana externa para a membrana interna da mitocôndria (Figura 1). Este passo inicial é executado pela proteína de regulação aguda da esteroidogénese (StAR) ancorada na membrana externa e auxiliado pela proteína de translocação (TSPO) presente na membrana interna da mitocôndria, constituindo assim, o passo limitante da esteroidogénese.<sup>8,9</sup> Esta etapa é seguida pela conversão do colesterol em pregnenolona por ação da enzima do citocromo P450 de clivagem da cadeia lateral do colesterol (P450<sub>scc</sub>), enzima chave na biossíntese das hormonas esteroides.<sup>6,8</sup> Esta conversão resulta de uma primeira reação de hidroxilação formando o 22β-hidroxicolesterol, seguida de uma segunda hidroxilação que leva à formação do 20α,22β-dihidroxicolesterol e posterior clivagem da ligação C<sub>20</sub>-C<sub>22</sub> originando-se assim a molécula de pregnenolona. Após esta fase, a pregnenolona é oxidada a progesterona pela 3β-hidroxiesteroide desidrogenase (3β-HSD). Esta enzima é ainda responsável por catalisar a conversão da DHEA em androstenodiona. A progesterona é então metabolizada a 5α-dihidroprogesterona pela 5α-redutase.<sup>9</sup> O passo enzimático final consiste na conversão da testosterona em estradiol, catalisada pela enzima aromatase (Figura 1).<sup>4</sup>



**Figura 1** – Representação esquemática da biossíntese das hormonas esteroides ao nível da mitocôndria e do retículo endoplasmático. O complexo membranar multiproteico constituído pela StAR e pela TSPO é um elemento crucial na biossíntese de esteroides, já que a sua ativação por ligandos e sinais endógenos conduz ao aumento da produção de neurosteroides por transferência da molécula de colesterol através da membrana mitocondrial externa para a membrana mitocondrial interna possibilitando, desta forma, o início da esteroidogénese. MME: membrana mitocondrial externa; MMI: membrana mitocondrial interna; StAR: proteína de regulação aguda da esteroidogénese; TSPO: proteína de translocação; P450scc: enzima do citocromo P450 de clivagem da cadeia lateral do colesterol; 3β-HSD: 3β-hidroxiesteroide desidrogenase; 17β-HSD: 17β-hidroxiesteroide desidrogenase. (Adaptado da Ref.<sup>3 4</sup>)

### 2.3- Mecanismos de sinalização das hormonas sexuais

As hormonas sexuais regulam a função cerebral de uma forma autócrina ou parácrina por meio de recetores membranares, citoplasmáticos e nucleares.<sup>13</sup> No entanto, existem neurosteroides que não atuam sobre recetores hormonais, mas diretamente sobre canais iónicos da membrana plasmática modulando a neurotransmissão e, conseqüentemente, a homeostase neuronal.<sup>8,9</sup>

Alguns neurosteroides, como a alopregnenolona, conseguem alterar rapidamente a excitabilidade neuronal através da interação direta com os recetores GABA<sub>A</sub> sinápticos e extra-sinápticos, atuando como potentes agonistas alostéricos positivos. Como consequência da ligação aos recetores GABA<sub>A</sub> gera-se um influxo neuronal de cloreto que conduz ao controlo das redes excitatórias, inibição de convulsões e controlo do comportamento. Por

este motivo, os neurosteroides surgem como moléculas terapêuticas emergentes no tratamento da insónia, epilepsia e transtornos humorais.<sup>6,11</sup>

Apesar desta via de atuação, o principal meio pelo qual as hormonas esteroides exercem as suas ações é através da sua ligação aos respetivos recetores hormonais, seguida da ativação de um conjunto de cinases,<sup>4</sup> culminando numa cascata sinalizadora de eventos neuroativos e neuroprotetores.<sup>5</sup>

Os estrogénios atuam a nível cerebral através da ativação de vários mecanismos sinalizadores complementares, sendo que o mecanismo mais bem caracterizado é aquele que está envolvido na regulação da transcrição de genes pela ativação clássica dos recetores de estrogénios (ER) localizados no citoplasma. Até ao momento, foram identificadas duas isoformas principais dos ER - ER $\alpha$  e ER $\beta$  - ambas constituídas por um domínio de ligação ao DNA e um domínio de ligação ao ligando. Os diferentes estrogénios ligam-se aos ERs ativando-os e promovendo a sua dimerização com posterior translocação para o núcleo, onde ocorre ligação aos elementos responsivos do estrogénio (ERE) na região promotora de genes específicos, resultando no recrutamento de co-ativadores ou co-repressores transcricionais (via genómica).<sup>4,17</sup> No entanto, os estrogénios conseguem também induzir a via de sinalização não genómica, através da ligação aos ER $\alpha$  e aos recetores de estrogénio acoplados à proteína-G (GPER), ambos localizados na membrana plasmática.<sup>5</sup> A ativação dos GPER pelos estrogénios dá início à via de sinalização da PI3K/AKT e MAPK/ERK, responsável por coordenar a transcrição e tradução de genes envolvidos na regulação da diferenciação celular, proliferação, sobrevivência e apoptose.<sup>2</sup>

À semelhança dos estrogénios, também a progesterona exerce efeitos sinalizadores por via genómica, após ligação aos recetores intracelulares da progesterona (PR) - PR<sub>A</sub> e PR<sub>B</sub> - e efeitos sinalizadores por via não genómica, após ativação dos recetores membranares da progesterona (mPR) - mPR $\alpha$ , mPR $\beta$  e mPR $\gamma$  - que estão envolvidos na ativação da PI3K/AKT e da MAPK/ERK.<sup>2</sup>

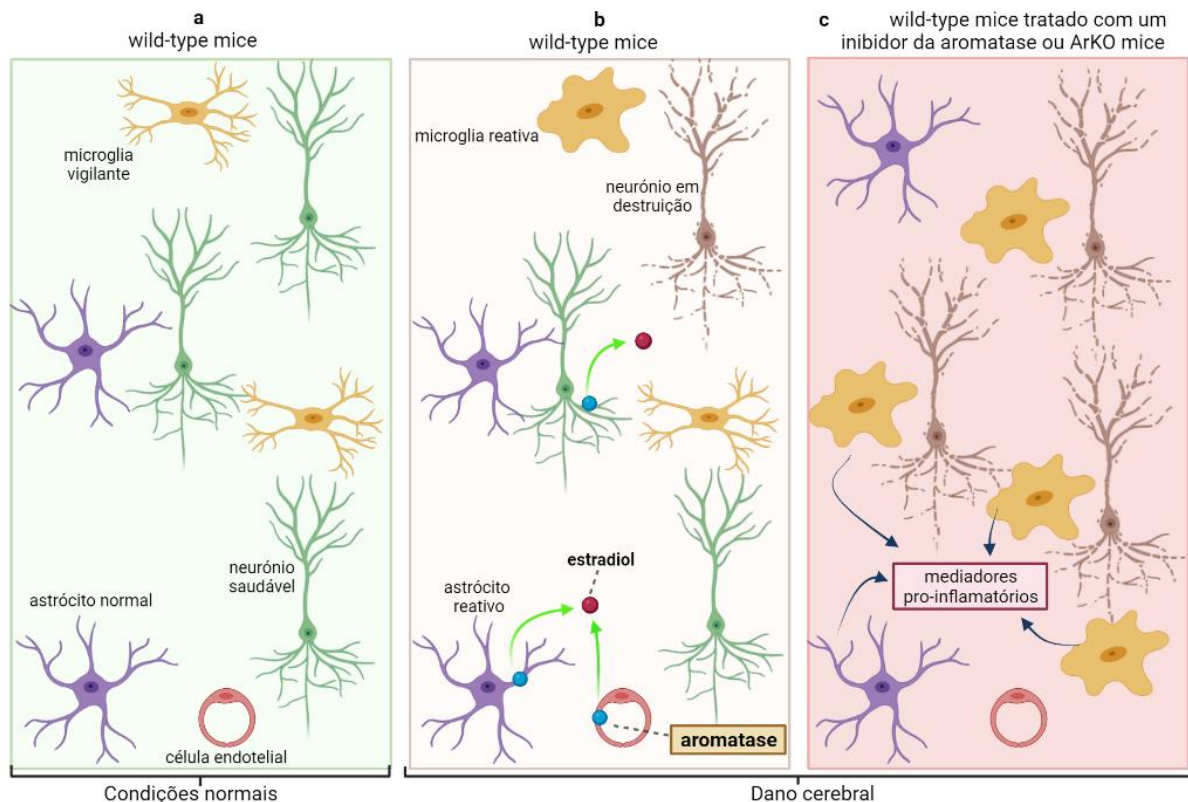
Por sua vez, os androgénios atuam por intermédio do recetor dos androgénios (AR) localizado ao nível citoplasmático. Após ligação da testosterona ou do seu metabolito mais ativo, a DHT, o AR dimeriza e sofre translocação para o núcleo onde funciona como fator de transcrição, regulando diretamente a expressão de genes. Adicionalmente, os androgénios conseguem induzir uma sinalização rápida através da ativação da via não genómica.<sup>3</sup>

## 2.4- O papel da aromatase na neuroproteção

A enzima aromatase, que é responsável pela conversão de androgénios em estrogénios, é amplamente expressa nos neurónios de diferentes regiões do cérebro masculino e feminino, incluindo regiões responsáveis pelo controlo da reprodução e de emoções, bem como regiões envolvidas no processo de aprendizagem e memória. Desta forma, alterações rápidas na atividade da aromatase cerebral estão relacionadas com ligeiras alterações na função sináptica, na atividade neuronal e no comportamento.<sup>4</sup>

Sabe-se, atualmente, que existe uma sobreexpressão de aromatase nas células reativas da glia localizadas na proximidade de um dano cerebral<sup>13</sup> e que esta sobreexpressão ocorre de forma mais acelerada em indivíduos do sexo feminino, um fenómeno que é anulado na presença de inibidores da ciclooxigenase (COX), sugerindo um papel intermediário da inflamação na indução da aromatase.<sup>18</sup> Adicionalmente, sabe-se que a expressão de aromatase apresenta um padrão sexualmente dimórfico ao nível do endotélio cerebrovascular, sendo que nas mulheres a atividade da aromatase cerebral é modulada pela quantidade circulante de estrogénios, variando, por isso, durante o ciclo menstrual. Já nos homens, a expressão da aromatase encontra-se aumentada na presença de níveis mais altos de testosterona.<sup>7</sup>

São várias as abordagens experimentais que visam confirmar as propriedades neuroprotetoras indiretas da aromatase em ambos os sexos, após uma situação de dano cerebral.<sup>4</sup> Estudos onde foram utilizados ratos *knockout* para a aromatase (ArKO) e estudos onde se recorreu à administração sistémica de inibidores da aromatase tiveram como resultados a diminuição cerebral de estradiol e o aumento do dano cerebral, incluindo a perda neuronal e gliose na região do hipocampo, após aplicação de diferentes estímulos neurodegenerativos (Figura 2).<sup>19</sup> Estes achados sugerem que o cérebro promove a síntese local de estradiol após lesão neuronal como mecanismo endógeno neuroprotetor, confirmando-se, desta forma, o papel neuroprotetor da aromatase.<sup>20</sup>



**Figura 2** – O papel neuroprotetor da aromatase cerebral. a) Sob condições fisiológicas, os astrócitos e as células endoteliais de ratos Wild-Type (WT) não expressam a aromatase. b) Após dano cerebral, a microglia torna-se reativa e os neurónios afetados entram em processo de destruição. No entanto, os astrócitos tornam-se também eles reativos, promovendo a expressão de aromatase no seu interior. A expressão de aromatase ocorre adicionalmente ao nível dos neurónios e das células endoteliais. O aumento da síntese de estradiol, resultado da atividade da aromatase, conduz à proteção dos neurónios e à redução da gliose reativa. c) Após inibição farmacológica da aromatase ou utilizando ratos *Knockout* para a aromatase (ArKO), verificou-se uma acentuada progressão da gliose reativa e degeneração neuronal, com posterior libertação de mediadores pró-inflamatórios por parte dos astrócitos e da microglia reativa. (Adaptado da Ref.<sup>a</sup> 4)

A enzima aromatase revela-se, portanto, uma molécula neuroprotetora de grande interesse nos humanos, pois sabe-se agora que a existência de variações genéticas ao nível desta enzima confere um risco aumentado de desenvolvimento de doenças neurodegenerativas (ND), em particular a Doença de Alzheimer (DA).<sup>4</sup>

## 2.5- Diferenças morfológicas e fisiológicas entre sexos

O cérebro dos mamíferos exibe diferenças estruturais e funcionais significativas entre sexos, não só derivado das diferenças genéticas (cromossoma X e Y), mas notavelmente derivado das diferenças hormonais.<sup>21</sup> Quer as hormonas esteroides periféricas, quer os neurosteroides, regulam uma extensa variedade de funções desde o desenvolvimento fetal até à fase adulta da vida,<sup>5</sup> contribuindo para a existência de mecanismos fisiológicos responsáveis pelo dimorfismo sexual ao nível cerebral, incluindo os mecanismos envolvidos na identidade

de gênero, orientação e comportamento sexual,<sup>22</sup> na neurogênese, na função cognitiva e no humor.<sup>23</sup> No que concerne às diferenças anatômicas cerebrais, verifica-se que os homens possuem um maior volume cerebral e uma percentagem superior de substância branca, ao passo que nas mulheres a percentagem de substância cinzenta é consideravelmente maior.<sup>23</sup>

Durante o desenvolvimento embrionário, com a formação dos testículos no sexo masculino, começa a produção de testosterona que, após conversão em estradiol pela aromatase, medeia a masculinização do cérebro. Esta é responsável pela diferenciação sexual durante o período crítico pré e pós-natal, sendo que alguns dos aspetos dimórficos se prolongam através da puberdade.<sup>12</sup> Esta exposição ao estradiol e não à DHT, durante esta janela temporal específica do processo de desenvolvimento, é essencial para uma correta formação morfológica e fisiológica dos circuitos neuronais. Em contrapartida, uma deficiente exposição às hormonas esteroides durante este intervalo crítico de desenvolvimento resulta na feminização do cérebro e do comportamento.<sup>2,7</sup> Apesar dos estrogénios desempenharem um papel importante no dimorfismo sexual do cérebro, a forma como estes regulam o córtex cerebral ainda não está totalmente compreendida.<sup>10</sup> No entanto, sabe-se que os diferentes níveis de expressão e localização dos recetores hormonais (ER, PR e AR), inclusive as variações de expressão registadas durante o ciclo menstrual,<sup>24</sup> explicam, em parte, vários comportamentos e funções cerebrais específicos de ambos os sexos.<sup>7</sup>

Atualmente, sabe-se que o sexo masculino tende a apresentar maior incidência de distúrbios neurológicos numa fase mais precoce da vida, enquanto que o sexo feminino é mais suscetível a doenças que surgem numa fase mais tardia. Em indivíduos do sexo feminino, doenças como a depressão e a ansiedade tendem a surgir na fase da adolescência, período durante o qual o número da microglia se encontra superior ao do sexo masculino. Desta forma, o conhecimento em ambos os sexos dos padrões da microglia, no que diz respeito ao seu número e morfologia, revela ser uma ferramenta importante na determinação do período crítico durante o qual existe uma suscetibilidade acrescida de desenvolver uma dada patologia resultante de uma determinada perturbação.<sup>1</sup>

Por estas razões, verificamos que as hormonas sexuais desempenham, de forma distinta entre sexos, uma ação moduladora da função e da organização cerebral<sup>25</sup> durante as várias etapas da vida de um indivíduo<sup>26</sup> e que, este dimorfismo se relaciona intrinsecamente com as distintas suscetibilidades para o desenvolvimento de doenças que afetam o SNC, incluindo a Doença de Alzheimer, a Doença de Parkinson (PD), a Esclerose Múltipla (EM), a Atrofia Muscular Bulbo-Espinal (BSMA), o autismo e a esquizofrenia.<sup>21,27</sup>

## **2.6- Diferenças sexuais nos níveis de esteroides neuroativos sob condições fisiológicas**

No que respeita aos níveis das hormonas esteroides neuroativas, sabe-se que estas diferem entre sexos, não só pela diferença dos níveis de esteroides que são produzidos periféricamente e que conseguem atravessar a BHE, mas também devido aos distintos níveis de expressão das enzimas esteroidogénicas nas várias regiões cerebrais.<sup>8</sup> A disponibilidade de informação relativa às diferenças dos níveis de neurosteroides de acordo com o sexo e a idade do indivíduo ainda é limitada por várias razões, incluindo considerações éticas, técnicas e logísticas.<sup>6</sup>

Apesar destes obstáculos, sabe-se que os níveis séricos de testosterona são superiores nos homens relativamente aos níveis femininos. No entanto no líquido cefalorraquidiano (LCR), os níveis são semelhantes entre sexos. Adicionalmente, os níveis masculinos de estradiol no LCR são superiores aos encontrados no plasma, bem como àqueles encontrados no LCR das mulheres, sugerindo, desta forma, a extensa conversão da testosterona em estradiol pela aromatase no cérebro masculino. De igual forma, também os níveis masculinos de DHT no LCR são superiores aos seus níveis plasmáticos.<sup>5</sup> Relativamente aos níveis de progesterona, sabe-se que estes são semelhantes no cérebro de ambos os sexos.<sup>13</sup> Tendo em conta o descrito, denota-se o papel da neurosteroidogénese na manutenção dos níveis cerebrais destas hormonas sexuais.<sup>5</sup>

## **2.7- Alterações hormonais relacionadas com a idade**

O declínio dos níveis das hormonas sexuais, quer a nível sérico quer a nível do SNC, é uma das modificações mais relevantes associadas ao processo natural de envelhecimento.<sup>5</sup> A par deste acontecimento inevitável, surgem, numa fase mais avançada da vida, processos de neurodegeneração caracterizados por disfunção mitocondrial,<sup>28</sup> aumento das espécies reativas de oxigénio (ROS), aumento do *stress* oxidativo, agregação proteica,<sup>5</sup> hipometabolismo cerebral da glucose, diminuição da plasticidade sináptica, entre outros.<sup>29</sup> Em conjunto, estes episódios conduzem a processos de neuroinflamação precedidos de disfunção cerebral, culminando no aparecimento de doenças neurodegenerativas.<sup>5,30</sup>

No sexo feminino, os níveis plasmáticos de hormonas sexuais alteram-se durante o desenvolvimento e a puberdade, flutuam com o decurso do ciclo menstrual e, subitamente, decaem com a menopausa.<sup>4</sup> A menopausa é um processo fisiológico natural, independente da raça, da cultura ou da etnia, ocorrendo por volta dos 51 anos de idade.<sup>17,30</sup> Este evento é

caracterizado pela senescência reprodutiva<sup>31</sup> derivada da exaustão dos folículos primários e dos oócitos, com consequente redução abrupta na produção de estrogénios e progesterona.<sup>12</sup> Anteriormente à menopausa, surge um estado de transição neuroendócrino designado de perimenopausa.<sup>29</sup> Ao nível endócrino, durante a perimenopausa, ocorrem alterações no eixo hipotálamo-hipófise-ovários resultando em flutuações nos níveis circulantes de hormonas e ciclos menstruais irregulares. São vários os sintomas que caracterizam esta fase, incluindo afrontamentos e suores noturnos, depressão, mudanças de humor, distúrbios do sono, perda de apetite, dores musculoesqueléticas,<sup>24</sup> secura vaginal, disfunção sexual, problemas na concentração e memória.<sup>29,30</sup> Os sintomas neurológicos emergentes durante este estado derivam de distúrbios na regulação de sistemas onde existe grande abundância de recetores de estrogénio, como é o caso do núcleo preóptico hipotalâmico, considerado o centro primário de termorregulação e, ainda, o caso do núcleo supraquiasmático do hipotálamo que é responsável pela regulação do sono e do ritmo circadiano. É de salientar que muitos destes distúrbios podem mesmo persistir durante vários anos após a menopausa.<sup>30</sup>

Um estudo realizado em ratos fêmea comprovou que a ovariectomia (OVX) interfere negativamente com a esperança de vida, devido à aceleração do estado basal de inflamação por redução da atividade anti-inflamatória mediada pelos estrogénios. Os estrogénios regulam o metabolismo energético em vários órgãos, onde as hormonas sexuais influenciam fortemente o metabolismo dos lípidos e do colesterol. De facto, à semelhança do descrito após OVX em ratos fêmea, também nas mulheres pós-menopausa se verifica o aumento de peso, a acumulação de tecido adiposo visceral e o aumento de lípidos no fígado, salientando desta forma, a importância dos estrogénios na manutenção da homeostase ao nível metabólico.<sup>32</sup> Foi ainda realizado um estudo onde se procedeu à OVX de mulheres antes do aparecimento dos sintomas característicos da perimenopausa, tendo-se registado um aumento do declínio da função cognitiva, sobretudo ao nível da memória, o que veio salientar mais uma vez, a importância dos estrogénios na cognição.<sup>33</sup>

Em contraste com o declínio abrupto das hormonas sexuais característico da menopausa, a senescência reprodutiva masculina ocorre de forma gradual ao longo de décadas.<sup>5</sup> Este declínio natural, associado ao envelhecimento no sexo masculino, é acompanhado de reduções graduais nos níveis circulantes de testosterona.<sup>6,12</sup> Num homem adulto, os níveis séricos de testosterona aproximam-se de 15 nmol/L, enquanto no indivíduo idoso este valor encontra-se abaixo de 10 nmol/L.<sup>5</sup> Na base da diminuição dos níveis de testosterona está a atrofia das células de Leydig e a progressiva disfunção do eixo hipotálamo-hipófise-testículos, responsável pela regulação da produção de testosterona.<sup>12</sup> Apesar do 17β-



estradiol ser sintetizado a partir da testosterona, homens em envelhecimento não demonstram decréscimos significativos nos níveis plasmáticos e cerebrais de  $17\beta$ -estradiol, o que comprova, mais uma vez, a ação preponderante da aromatase.<sup>12</sup>

Desta forma, verifica-se que a diminuição dos níveis de hormonas sexuais e das respetivas ações durante a senescência reprodutiva varia expressivamente entre sexos. Todas estas diferenças sexuais no que diz respeito ao período, extensão e duração do declínio das hormonas esteroides contribui para a distinta vulnerabilidade sexual face ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, em particular a Doença de Alzheimer.<sup>6</sup>

### 3- A Doença de Alzheimer

Estima-se que cerca de 47 milhões de pessoas em todo o mundo vivam com demência, sendo que a Doença de Alzheimer (DA) constitui a forma de demência mais prevalente, representando 60 a 80% dos casos.<sup>9,23</sup>

Clinicamente, a DA é uma doença neurodegenerativa cujos sintomas cognitivos se iniciam de forma insidiosa e progridem de forma gradual ao longo dos anos.<sup>1</sup> Um dos sintomas iniciais consiste na perturbação da memória episódica traduzindo-se numa dificuldade em recordar acontecimentos recentes. Com o passar do tempo, a perda de memória intensifica-se e, associado a isto, surgem outros sintomas como disfunção cognitiva generalizada, dificuldades na verbalização e na orientação espacial e ainda alterações comportamentais, incluindo apatia, depressão, ansiedade, agitação e agressividade.<sup>1,23</sup>

Neuropatologicamente, os principais *hallmarks* no cérebro de pacientes com DA são a deposição extracelular da proteína amiloide  $\beta$  ( $A\beta$ ), com posterior formação de placas senis, e a hiperfosforilação da proteína Tau, formando novos neurofibrilares (NFT) no interior do corpo celular dos neurónios afetados de regiões envolvidas na cognição, incluindo o hipocampo e o córtex cerebral.<sup>12,34</sup> Estes acontecimentos conduzem à neurodegeneração derivada da ativação da glia, perda da transmissão sináptica e morte neuronal.<sup>21</sup> Para além disso, a DA possui uma componente genética, tanto no que diz respeito ao início precoce, como ao início tardio da doença. O início precoce da DA, caracterizado pelo surgimento de sintomas antes dos 60 anos de idade, está associado a mutações autossómicas dominantes, que conduzem a uma acumulação descontrolada de  $A\beta$  a nível cerebral. Por sua vez, no início tardio da DA, a presença do alelo  $\epsilon 4$  do gene que codifica para a Apolipoproteína E ( $APOE\epsilon 4$ )

contribuiu para a acumulação de A $\beta$ , com conseqüente aumento da neuroinflamação, levando a um risco aumentado de desenvolver a doença.<sup>1,8</sup>

### **3.1-Diferenças sexuais no desenvolvimento da Doença de Alzheimer**

Um estudo onde se procedeu à determinação dos níveis cerebrais de hormonas sexuais em indivíduos com e sem diagnóstico neuropatológico de DA veio demonstrar que os níveis cerebrais de estradiol e estrona em mulheres com a doença em questão se encontram significativamente reduzidos, quando comparados com mulheres de idade correspondente e sem a patologia. Contrariamente, não se observou heterogeneidade significativa no que se refere aos níveis cerebrais de estrogénios entre homens com e sem DA. Desta forma, verifica-se que as reduções nos níveis de estrogénios, derivadas do processo natural de envelhecimento, contribuem para uma suscetibilidade aumentada do desenvolvimento da doença, especificamente no sexo feminino, salientando-se, assim, as diferenças existentes entre ambos os sexos.<sup>35</sup> Adicionalmente, foram realizados estudos que permitiram confirmar a diminuição dos níveis cerebrais de testosterona em homens com DA, comparativamente a homens de idade correspondente e sem a doença.<sup>36</sup> Esta relação parece ser sexualmente específica, uma vez que os níveis cerebrais de testosterona não se encontram expressivamente alterados em mulheres com e sem DA.<sup>35</sup> Em adição a esta redução dos níveis cerebrais de estrogénios e de testosterona em mulheres e em homens com DA, respetivamente, verifica-se uma diminuição dos níveis de outros neurosteroides, incluindo a alopregnenolona.<sup>37</sup> Em contrapartida, registam-se alterações na expressão de determinadas enzimas envolvidas na neurosteroidogénese, nomeadamente, a elevação da expressão da aromatase. Este aumento na expressão da aromatase surge como um possível mecanismo compensatório decorrente da limitação dos níveis de neurosteroides no cérebro de indivíduos com DA.<sup>38</sup>

A prevalência da DA é consideravelmente superior nas mulheres. Estimativas recentes sugerem que dois terços dos indivíduos diagnosticados com DA pertencem ao sexo feminino.<sup>23</sup> Esta elevada prevalência na mulher é explicada, em parte, pela longevidade superior relativamente aos homens. Para além disso, existe evidência de que, após o diagnóstico, a progressão e a severidade da doença são superiores na mulher.<sup>1,26</sup>

A idade é o fator de risco mais preponderante no desenvolvimento da DA de início tardio.<sup>34</sup> A redução dos níveis de hormonas sexuais associada ao envelhecimento constitui, assim, um relevante fator de risco para o desenvolvimento da doença em ambos os sexos.<sup>21</sup>

Como referido anteriormente, no decurso do processo de envelhecimento, a mulher passa por um estado de transição endócrino designado de perimenopausa. Este estado é caracterizado pela desregulação estrogénica do metabolismo cerebral da glucose, conduzindo a um estado hipometabólico acompanhado pelo aumento do catabolismo de ácidos gordos a nível cerebral, acumulação de A $\beta$  e declínio da plasticidade sináptica, predispondo a mulher para um risco aumentado de DA numa fase posterior da sua vida.<sup>29</sup> Adicionalmente, um estudo de coorte demonstrou que mulheres sujeitas a uma menopausa cirúrgica, através de ovariectomia bilateral, experienciaram um aumento do declínio da função cognitiva, sobretudo no que concerne a alterações na memória episódica, realçando, uma vez mais, o papel participativo das hormonas sexuais no desenvolvimento da doença.<sup>39</sup>

Contrariamente ao rápido declínio dos níveis de hormonas sexuais registado durante a perimenopausa, no sexo masculino verifica-se um declínio gradual dos níveis de testosterona ao longo da idade. A diminuição dos níveis cerebrais de testosterona, associada ao processo natural de envelhecimento, predispõe o homem a um risco acrescido de desenvolver DA.<sup>35</sup> De facto, um estudo de coorte, realizado com o objetivo de determinar a existência da associação entre a terapêutica de privação de androgénios e a DA, veio demonstrar que os pacientes com cancro da próstata sob terapia anti-androgénica apresentam, significativamente, uma maior probabilidade de desenvolver DA.<sup>40</sup>

Sabe-se, atualmente, que o APOE $\epsilon$ 4 constitui o maior fator genético de risco para o desenvolvimento da DA de início tardio e que este se encontra intimamente relacionado com a anormal acumulação da proteína A $\beta$  por deficiência nos processos envolvidos na sua degradação. Curiosamente, o APOE $\epsilon$ 4 representa um fator de risco mais impactante nas mulheres que nos homens, já que se verificou um mais rápido declínio da função cognitiva em mulheres portadoras da mutação no alelo  $\epsilon$ 4 quando comparado com mulheres não-portadoras ou com homens de qualquer genótipo. Estes dados sugerem, portanto, que o APOE $\epsilon$ 4 interage de forma distinta entre sexos, influenciando a extensão do risco de desenvolvimento da DA.<sup>34</sup>

Conclui-se assim, que os três principais fatores de risco para o desenvolvimento de início tardio de DA - idade, sexo feminino e genótipo APOE $\epsilon$ 4 - interagem durante o processo endócrino de envelhecimento para, cooperativamente, conduzirem ao desenvolvimento da doença.<sup>29</sup>

### **3.2- O papel das hormonas sexuais no controlo dos níveis cerebrais de Amiloide $\beta$**

A par de outras características patológicas, existe na DA um desequilíbrio notável entre a produção de proteína  $A\beta$  e a respetiva eliminação, conduzindo à sua acumulação a nível cerebral. Esta acumulação de  $A\beta$  constitui a primeira causa de inflamação e degeneração cerebral, paralelamente acompanhada do declínio cognitivo. Atualmente, sabe-se que as hormonas sexuais desempenham um papel fulcral na regulação da produção, transporte, degradação e eliminação de  $A\beta$ , através da modulação das moléculas envolvidas, respetivamente, na via de produção amiloidogénica, no transporte através das barreiras cerebrais e na degradação dos agregados peptídicos.

#### **3.2.1- Regulação da síntese de Amiloide $\beta$ pelas hormonas sexuais**

A produção de  $A\beta$  constitui um evento natural que ocorre nos neurónios e astrócitos e cuja presença se pensa estar envolvida no processo de memória e aprendizagem. A sua produção inicia-se com a clivagem da proteína precursora amiloide (APP) pela  $\alpha$ -secretase ou pela  $\beta$ -secretase (BACE) nos locais  $\alpha$  ou  $\beta$  presentes no domínio extracelular da glicoproteína APP, originando a forma solúvel  $APP\alpha$  (sAPP $\alpha$ ) e a proteína ligada à membrana C83 ou a forma solúvel  $APP\beta$  (sAPP $\beta$ ) e a proteína ligada à membrana C99, respetivamente. O processamento da APP pela  $\alpha$ -secretase seguido pela  $\gamma$ -secretase, no qual não há formação de  $A\beta$ , é designado de percurso não-amiloidogénico, enquanto o processamento da APP pela BACE sucedido pela  $\gamma$ -secretase, o qual conduz à formação de  $A\beta$ , é denominado de percurso amiloidogénico. Na DA a via amiloidogénica está favorecida em detrimento da via não-amiloidogénica, levando ao aumento da produção e conseqüente acumulação de  $A\beta$ .<sup>5</sup>

Vários estudos *in vivo* confirmam que o processamento da APP é modulado pela ação das hormonas sexuais. Um estudo conduzido em ratos transgénicos fêmea com DA induzida sujeitos a tratamento de  $17\beta$ -estradiol veio demonstrar uma elevação dos níveis de sAPP $\alpha$  por aumento da atividade da  $\alpha$ -secretase quando comparados ao grupo controlo sob tratamento com placebo.<sup>41</sup> Adicionalmente, registou-se um decréscimo dos níveis de sAPP $\beta$  derivado da diminuição da expressão da BACE e da atividade da  $\gamma$ -secretase.<sup>41</sup> A par do descrito, outro estudo veio confirmar que a administração de  $17\beta$ -estradiol em ratos fêmea transgénicos APP23, um modelo de ratos com DA, levou a uma desregulação da expressão da BACE mediada pela ligação do  $17\beta$ -estradiol aos respetivos ER, com posterior ativação da sinalização

da rede de cinases.<sup>42</sup> Desta forma, o favorecimento da formação de sAPP $\alpha$  em detrimento de sAPP $\beta$  conduz à redução dos níveis de A $\beta$ , por estimulação da via não amiloidogénica.

Por outro lado, não se verificaram alterações nos níveis de sAPP $\alpha$  após tratamento com progesterona,<sup>43</sup> embora a combinação da administração de 17 $\beta$ -estradiol com progesterona em ratos fêmea sujeitos a OVX tenha conduzido à desregulação da expressão da BACE.<sup>44</sup> Para além disto, de forma a avaliar o papel estrogênio-independente da testosterona na regulação da formação de A $\beta$ , foi realizado um estudo utilizando ratos ArKO com a mutação APP23. Neste estudo verificou-se uma significativa redução da formação de placas de A $\beta$  através da diminuição da expressão e atividade da BACE.<sup>45</sup>

### **3.2.2- Regulação do transporte de Amiloide $\beta$ pelas hormonas sexuais**

A BHE é uma estrutura fisiológica vital responsável por proteger o SNC e manter a homeostase. Está intrinsecamente envolvida na etiologia da DA uma vez que é responsável pelas trocas da proteína A $\beta$  entre o SNC e o sangue, impedindo, assim, a acumulação desta proteína e a consequente formação de placas senis. De entre os vários transportadores presentes na BHE destaca-se a classe dos transportadores de efluxo *ATP-binding cassette* (ABC) que funcionam como primeira linha de defesa através do efluxo de moléculas prejudiciais para o SNC.<sup>46</sup> A subfamília de transportadores ABCA1 regula o efluxo de colesterol e desempenha um importante papel na formação de lipoproteínas de elevada densidade. Este transportador tem sido associado à DA, pois está envolvido na lipidação e estabilidade da ApoE. A deficiente expressão de transportadores ABCA1 está associada à acumulação celular de colesterol e à consequente diminuição da lipidação da ApoE, o que conduz à diminuição da degradação proteolítica e ao aumento da deposição da proteína A $\beta$ .<sup>47</sup> Embora os dados ainda sejam limitados, sabe-se que administração de 17 $\beta$ -estradiol promove a expressão dos transportadores ABCA1 mediada por ER $\beta$ , enquanto a progesterona e a testosterona provocam a sua desregulação.<sup>5</sup>

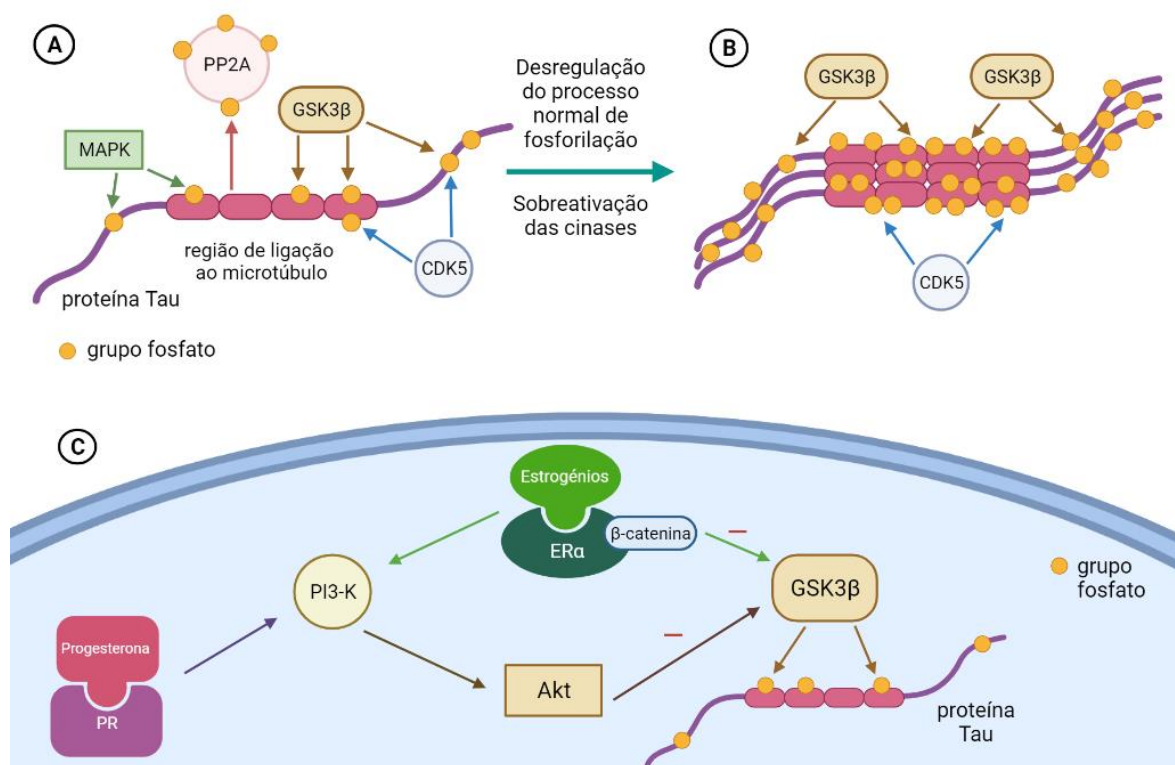
### 3.2.3- Regulação da degradação e eliminação de Amiloide $\beta$ pelas hormonas sexuais

A degradação e eliminação da proteína  $A\beta$  é mediada sobretudo pela ação de determinadas peptidases que contribuem para a sua remoção do LCR e do líquido intersticial. A transtirretina (TTR) é uma proteína tetramérica presente no plasma e no LCR capaz de se ligar à proteína  $A\beta$ , impedindo a sua agregação. Para além disso, a TTR tem ainda a capacidade de degradar agregados fibrilares de  $A\beta$ .<sup>48</sup> As concentrações de TTR no LCR e no plasma encontram-se reduzidas em indivíduos com DA e, curiosamente, apresentam uma redução superior em mulheres com a doença quando comparadas com homens de idade correspondente. Diferentes estudos realizados em roedores, com o âmbito de perceber o papel das hormonas sexuais na regulação da TTR, vieram mostrar que o  $17\beta$ -estradiol, a progesterona e a DHT conduzem ao aumento dos níveis de TTR no fígado e no plexo coroide, diminuindo, portanto, a acumulação de  $A\beta$  no SNC.<sup>5</sup>

Para além da TTR, também a enzima degradante da insulina (IDE) e a neprilisina (NEP) estão envolvidas no processo de degradação da proteína  $A\beta$ . Ambas regulam os níveis extracelulares da proteína  $A\beta$  através da hidrólise de várias ligações peptídicas desta proteína, reduzindo a sua acumulação. Tanto os níveis e atividade da IDE como da NEP encontram-se reduzidos em indivíduos com DA.<sup>5</sup> Um estudo realizado por Zhao e colaboradores veio demonstrar que o  $17\beta$ -estradiol conduz ao aumento da expressão da IDE mediado pela ativação da fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K) por ligação aos  $ER\beta$ , quando administrado a ratos fêmea OVX e a ratos fêmea transgênicos DA triplo (3xTg-AD), um modelo de ratos com DA. Desta forma, o tratamento com  $17\beta$ -estradiol eleva os níveis de IDE e, por isso, atenua a acumulação de  $A\beta$ . Para além disso, este estudo permitiu verificar que também a progesterona possui um efeito semelhante, embora a sua administração continuada em concomitância com  $17\beta$ -estradiol tenha levado ao bloqueio do aumento de expressão da IDE.<sup>49</sup> Quanto ao papel da testosterona na regulação da expressão da IDE, verificou-se que a sua administração em ratos machos sujeitos a orquiectomia (GDX) conduziu ao aumento dos níveis de IDE comparativamente ao grupo controlo. Adicionalmente, à semelhança do descrito para a IDE, também os níveis de NEP se encontram aumentados após administração de  $17\beta$ -estradiol e DHT em ratos fêmea OVX e em ratos macho GDX, respetivamente. Estes resultados confirmam a importância das hormonas sexuais na regulação de enzimas necessárias para manutenção da homeostase.<sup>5</sup>

### 3.3- A ação das hormonas sexuais na regulação da fosforilação da proteína Tau

A proteína Tau é uma fosfoproteína encontrada quase exclusivamente nos neurónios, participando em inúmeros processos fisiológicos, incluindo a axogénese, o transporte axonal e a divisão celular. É responsável por promover a estabilização dos microtúbulos através da copolimerização com a tubulina. Esta função é fortemente influenciada pelo estado de fosforilação, sendo que, quanto maior a desfosforilação da Tau, maior a eficiência na formação dos microtúbulos. Quando presente num estado hiperfosforilado, a Tau agrega e forma os denominados novos neurofibrilares que constituem um dos principais *hallmarks* da DA. A fosforilação da Tau consiste num processo dinâmico envolvendo diferentes cinases, incluindo a cinase  $\beta$  da glicogénio sintase (GSK3 $\beta$ ) e a cinase 5 dependente da ciclina (CDK5), e diferentes fosfatases, incluindo a proteína fosfatase 2A (PP2A).<sup>50</sup> Na DA, a atividade da PP2A encontra-se significativamente reduzida, em oposição à atividade aumentada da GSK3 $\beta$ ,<sup>51</sup> conduzindo à hiperfosforilação da Tau e conseqüente formação de NFT, contribuindo para o processo de neurodegeneração. Para além disso, uma vez fosforilada pela CDK5, a Tau torna-se mais suscetível à fosforilação pela GSK3 $\beta$ , realçando as interações existentes entre ambas as enzimas (Figura 3).<sup>50</sup>



**Figura 3** – Processo dinâmico de fosforilação e desfosforilação da proteína Tau. A- Sob condições fisiológicas, existe um equilíbrio entre a fosforilação e a desfosforilação da proteína Tau mediado pela ação das diferentes cinases e fosfatases, respetivamente. A existência deste equilíbrio é essencial para a neuroplasticidade celular. B-

Quando ocorre uma disrupção do balanço de fosforilação/desfosforilação derivada da sobreativação das cinases, ocorre hiperfosforilação da proteína Tau o que conduz à sua agregação, levando à formação dos denominados NFT. C- Regulação da fosforilação da proteína Tau pelas hormonas sexuais. Quer os estrogénios quer a progesterona apresentam atividade bem estabelecida sobre a ativação da via da AKT, conduzindo à fosforilação da GSK3 $\beta$  e à sua consequente inibição. Uma vez que a GSK3 $\beta$  está ligada ao desenvolvimento patológico da DA, a regulação da sua atividade pelas hormonas sexuais pode explicar a relação entre o decréscimo dos níveis dos neurosteroides e o aumento do risco de desenvolver DA. (Adaptado da Ref.<sup>a</sup> 50)

Como referido, a Tau apresenta um papel de grande importância na plasticidade celular, onde são requeridas alterações significativas a nível do citoesqueleto. Atualmente, sabe-se que estas alterações são controladas, em parte, pela ação das hormonas sexuais.<sup>52</sup> Os estrogénios executam as suas propriedades neuroprotetoras através da ligação ao ER $\alpha$  ativando a via de sinalização da PI3K e da proteína cinase B (AKT), bem como a via de sinalização mediada pela  $\beta$ -catenina,<sup>53</sup> resultando na fosforilação do resíduo 9 de serina da GSK3 $\beta$ . Esta fosforilação leva à inibição da atividade da GSK3 $\beta$ , conduzindo, portanto, à redução da fosforilação da proteína Tau (Figura 3).<sup>50</sup>

À semelhança dos estrogénios, também a progesterona desencadeia os seus efeitos neuroprotetores através da ativação de várias vias de sinalização, incluindo a via da PI3K, da AKT e da MAPK/ERK, após ligação aos respetivos recetores - PR<sub>A</sub> e PR<sub>B</sub>. Como resultado desta ligação, ocorre a fosforilação de determinados resíduos de serina presentes na GSK3 $\beta$ , levando, portanto, à inibição da sua atividade fosforilativa sob a proteína Tau (Figura 3). Curiosamente, a ligação ao PR<sub>A</sub> consegue modular a atividade do PR<sub>B</sub> e do ER, o que poderá explicar o seu efeito antagónico ou sinérgico quando administrado com o estradiol.<sup>54</sup> De facto, a administração conjunta de estradiol com progesterona a um grupo de ratos fêmea OVX permitiu verificar um decréscimo significativo da fosforilação da Tau, o que demonstra a interação sinérgica entre estas duas hormonas na redução da hiperfosforilação da proteína Tau.<sup>50</sup>

### **3.4 A terapia de substituição hormonal na Doença de Alzheimer**

Vários estudos clínicos *in vitro* e *in vivo* têm demonstrado a ação protetora dos estrogénios e da progesterona contra a morte neuronal induzida pela proteína A $\beta$  e o seu papel regulador da astrogliose e da neuroinflamação.<sup>55</sup> No entanto, apesar dos resultados consistentes em modelos animais de DA sugerirem o efeito neuroprotetor das hormonas sexuais, os dados de estudos em mulheres pós-menopausa sob terapia hormonal de substituição (THS) apresentam grande inconsistência.<sup>5</sup>



Alguns estudos descrevem melhorias da função cognitiva em mulheres pós-menopausa sob THS quando comparadas com o grupo placebo. De facto, estudos conduzidos em mulheres com menopausa induzida cirurgicamente demonstraram que a administração da THS anulou o risco aumentado de desenvolvimento de demência.<sup>23</sup> Contrariamente, o ensaio clínico multicêntrico de larga escala designado de *Women's Health Initiative* (WHI), cujo objetivo se prendeu com a investigação dos efeitos da THS sob o desempenho cognitivo em mulheres pós-menopausa, veio contrapor os resultados anteriores de estudos observacionais.<sup>56</sup> Os resultados deste estudo foram variados reportando não haver um abrandamento do declínio cognitivo, mas haver na verdade um risco aumentado de demência em mulheres com mais de 65 anos de idade sob THS.<sup>17</sup>

São vários os fatores que podem estar na origem da controvérsia existente entre os diferentes estudos, incluindo a duração da intervenção farmacológica, o estado de integridade cognitivo, a idade de iniciação da THS e a dosagem, forma farmacêutica, periodicidade e via de administração da terapêutica hormonal.<sup>21</sup> No entanto, existe uma hipótese atualmente aceite que tenta explicar a falta de benefício ou até mesmo os efeitos deletérios da THS, sendo esta designada de “janela de oportunidade”.<sup>57</sup> Esta hipótese baseia-se no processo mecanístico de depleção a longo prazo de estrogénios, induzindo uma diminuição dos níveis de ER $\alpha$  presentes no hipotálamo, uma estrutura cerebral altamente responsiva à terapêutica com estrogénios, envolvida na cognição e na neuroproteção. Desta forma, a iniciação da THS após depleção a longo prazo de estrogénios em que os ER $\alpha$  se encontram subexpressos não desencadeia efeitos neuroprotetores.<sup>23</sup> Neste sentido, a ideia da “janela de oportunidade” refere que a THS iniciada numa idade próxima da transição para a menopausa pode reduzir o risco de DA. Esta hipótese, embora não sendo ainda atestada por dados clínicos,<sup>17</sup> é corroborada por alguns estudos observacionais que reportam que mulheres que iniciem a THS dentro de 5 anos após a menopausa apresentam uma redução de 30% do risco de desenvolver DA quando comparado com mulheres que não são sujeitas a THS. Porém, mulheres que iniciem a terapêutica anos mais tarde no pós-menopausa ou quando em idade igual ou superior a 65 anos, não só não veem benefícios como ainda apresentam um risco aumentado de desenvolver demência.<sup>58</sup>

Apesar dos benefícios apresentados por alguns estudos acerca da redução do risco de demência e na prevenção de patologias como a osteoporose pós-menopáusicas, geralmente esta terapêutica apenas é recomendada em mulheres cujos benefícios superam os riscos e quando não existe outra opção terapêutica não-hormonal adequada. De facto, fortes evidências sugerem que a terapia hormonal com estrogénios isolados ou em combinação com

progesterona aumenta significativamente o risco de tromboembolismo e que o seu uso a longo prazo potencia o risco de eventos coronários, de cancro da mama, entre outros.<sup>59</sup>

Adicionalmente, a THS nos homens com recurso a androgénios parece apresentar efeitos neuroprotetores contra a DA em modelos animais da doença<sup>21</sup> e em homens, embora os estudos clínicos sejam ainda escassos.<sup>5</sup>

#### **4- Atrofia Muscular Bulbo-Espinal**

A Atrofia Muscular Bulbo-Espinal (BSMA) é uma doença neurodegenerativa genética recessiva, lenta e progressiva provocada pela repetição anormal do trinucleótido CAG no gene que codifica para o AR localizado no cromossoma X,<sup>60</sup> refletindo-se numa expansão de poliglutaminas (poliQ) no domínio N-terminal deste recetor.<sup>61</sup> Existe uma correlação entre o número de repetições do triplete CAG, a idade de início e a severidade da doença, sendo que quanto mais longa for a repetição, mais precoce e severa são as manifestações da patologia.<sup>61</sup>

O AR é um recetor nuclear cujo domínio N-terminal está envolvido na interação com outras proteínas nucleares responsáveis pela regulação da transcrição de genes alvo. A mutação provoca a perda da normal função do AR, conduzindo a disfunções endócrinas derivadas da insensibilidade aos androgénios e da alteração do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas,<sup>7</sup> incluindo atrofia testicular, ginecomastia, disfunção erétil e infertilidade.<sup>62</sup> Porém, a mutação causa, especialmente, um ganho tóxico da função da proteína o que leva a alterações estruturais, fazendo com que a ativação do recetor se torne tóxica para os neurónios motores.<sup>61</sup>

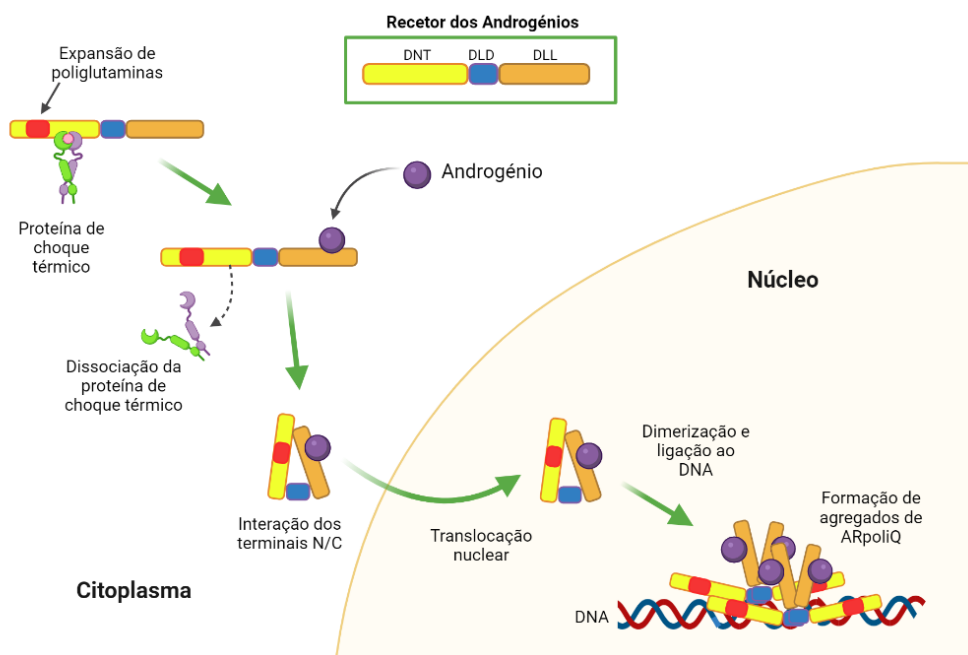
O início da doença ocorre normalmente por volta dos 40 anos de idade, podendo variar, no entanto, entre os 18 e os 64 anos,<sup>63</sup> sendo que o melhor indicador metabólico caracterizador da doença é a presença dos níveis séricos de creatinina 3 a 4 vezes superiores aos encontrados em indivíduos saudáveis.<sup>62</sup> A prevalência estimada da BSMA é de 1 a 2 casos por cada 100 000 indivíduos colocando-a, por isso, no grupo das doenças raras.<sup>60</sup>

Clinicamente, os sintomas caracterizam-se por fraqueza e atrofia muscular, tremores, fasciculações e por afeções dos músculos bulbares, incluindo disartria, laringospasmo e disfagia.<sup>62</sup> Num estado mais avançado da doença, a pneumonia por aspiração constitui a causa de morte mais comum.<sup>60</sup> Embora haja considerável evidência do envolvimento muscular na BSMA, sobretudo devido à perda do efeito anabólico por insensibilidade aos androgénios, a causa primária da doença é a degeneração dos neurónios motores.<sup>61</sup>

#### 4.1- O papel da testosterona na Atrofia Muscular Bulbo-Espinal

A BSMA apresenta a interessante particularidade de se manifestar quase exclusivamente em indivíduos do sexo masculino.<sup>61</sup> O requisito do envolvimento hormonal na patogênese da BSMA tem vindo a ser confirmado em vários estudos conduzidos em modelos animais da doença, onde apenas os modelos machos desenvolvem alterações motoras. Este envolvimento hormonal é suportado pelo facto de mulheres homozigóticas para a expansão poliQ no AR não apresentarem sinais clínicos da doença ou desenvolverem apenas um fenótipo ligeiro da patologia.<sup>62</sup> Estes achados suportam o envolvimento dos androgénios na patogênese da BSMA.<sup>7</sup> Além da influência dos androgénios, também alterações adicionais ao nível celular que ocorrem com a idade, incluindo a diminuição da capacidade de autofagia e a disfunção mitocondrial, conduzem à degeneração dos neurónios motores numa fase mais tardia da vida, mesmo que os níveis circulantes de androgénios se encontrem mais reduzidos.<sup>62</sup>

Atualmente, sabe-se que a testosterona confere ao AR com a expansão poliQ (ARpoliQ) a capacidade de formar agregados, que em determinadas circunstâncias estão relacionadas com eventos neurotóxicos (Figura 4).<sup>7</sup> De facto, a orquiectomia de ratos macho com BSMA induzida preveniu a acumulação de agregados de ARpoliQ e melhorou o fenótipo da doença, ao passo que a administração de testosterona a ratos fêmea com BSMA desencadeou a descrita acumulação e levou à manifestação da patologia.



**Figura 4** – Patogênese molecular da BSMA. A acumulação nuclear do ARpoliQ é a força motriz para o desenvolvimento do processo neurodegenerativo que caracteriza esta doença. Após ligação dos androgénios, testosterona e DHT, ao respetivo domínio de ligação do ARpoliQ, ocorre dissociação das proteínas de choque térmico, responsáveis pela estabilização do recetor ao nível do citoplasma, sucedendo-se a interação dos terminais N/C com posterior translocação para o núcleo. No núcleo, o ARpoliQ dimeriza e forma agregados

que requerem a ligação ao DNA e a interação com coativadores.<sup>61</sup> A acumulação de agregados de ARpoliQ desencadeia a disfunção de múltiplos processos, incluindo a desregulação da transcrição genética, disfunção autofágica, hiperfosforilação de proteínas, interrupção da homeostase proteica e do tráfico intracelular, disfunção mitocondrial e alteração da sinalização celular.<sup>63</sup> DLD- Domínio de Ligação ao DNA; DLL- Domínio de Ligação do Ligante; DNT- Domínio do N-terminal; N/C- terminal NH<sub>2</sub> e terminal carboxilo. (Adaptado da Ref.<sup>a</sup> 61)

Estas observações são a base da hipótese atual de que a testosterona é a responsável pela transição do carácter neurotóxico/não neurotóxico da proteína ARpoliQ e o fundamento do uso de terapias endócrinas na BSMA. De facto, na ausência de estimulação androgénica, o ARpoliQ mantém-se inativo no citoplasma por ação das proteínas de choque térmico, estando impedida, assim, a translocação e a consequente agregação nuclear, após ligação ao DNA.<sup>61</sup>

Até ao presente, não existe ainda um tratamento efetivo para a BSMA. No entanto, a manipulação hormonal e o silenciamento de genes com oligonucleótidos *antisense* constituem oportunidades terapêuticas promissoras.<sup>61</sup> Uma das abordagens usadas como tratamento da BSMA passa pela redução dos níveis de androgénios, tendo já demonstrado efeitos benéficos em modelos experimentais.<sup>63</sup> O acetato de leuprorrelina, um análogo sintético da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH), exerce uma ação agonista sobre os recetores GnRH, estimulando, numa primeira fase, a produção da hormona luteinizante (LH) e da hormona folículo-estimulante (FSH), o que conduz ao aumento da síntese de testosterona. No entanto, com a contínua administração de leuprorrelina, os recetores GnRH dessensibilizam, levando a uma redução da secreção de LH e FSH, com consequente diminuição da produção de testosterona. Um ensaio clínico de fase II, onde se procedeu à administração de acetato de leuprorrelina a 50 doentes com BSMA, demonstrou melhorias significativas na deglutição e demonstrou a diminuição da acumulação de agregados ARpoliQ em neurónios motores do tronco cerebral e da medula espinal.<sup>62</sup>

Apesar do fenótipo neurológico associado à BSMA ser causado pelo ganho da função tóxica do ARpoliQ, a perda de função do AR, por antagonismo ou por ausência de ativação androgénica, desencadeia sintomas deletérios nos indivíduos.<sup>62</sup> Desta forma, a abordagem terapêutica mais adequada passa por reduzir a expressão do gene ARpoliQ ao nível do SNC e dos miócitos, utilizando, para tal, a terapia com oligonucleótidos *antisense*, impedindo, assim, a transcrição da sequência de DNA que codifica o ARpoliQ.<sup>61</sup>

## 5- Impacto do uso de esteroides anabolizantes no processo neurodegenerativo

Os esteroides androgénicos anabolizantes (EAA) pertencem ao grupo de substâncias com propriedades anabólicas, do qual fazem parte a testosterona e os seus análogos sintéticos. Nos últimos anos, tem-se assistido a um crescente uso irracional destes compostos, sobretudo por indivíduos do sexo masculino, com o intuito de aumentar a força e massa muscular.<sup>64</sup> Os utilizadores destas substâncias autoadministram ciclicamente doses suprafisiológicas de EAA (dsEAA), precedidas de um período de abstinência de forma a minimizar os efeitos secundários inerentes.<sup>65</sup>

A administração de EAA conduz à supressão do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, o que reduz a secreção de LH e FSH, levando, portanto, a sintomas de hipogonadismo hipogonadotrófico, incluindo atrofia testicular, diminuição da espermatogénese, disfunção erétil e infertilidade. Adicionalmente, a ginecomastia, que representa o efeito lateral mais característico, deriva da extensa aromatização dos elevados níveis de androgénios exógenos. Para além dos efeitos endocrinológicos, surgem ainda efeitos adversos ao nível cardiovascular, hematológico e psiquiátrico.<sup>64</sup>

Como referido anteriormente, baixos níveis de testosterona no sexo masculino predis põem a um risco aumentado de desenvolver doenças, nomeadamente DA. Durante o período de abstinência ou após a suspensão da administração de dsEAA, atinge-se um estado de hipogonadismo caracterizado por níveis subfisiológicos de testosterona. Estudos recentes têm verificado que o uso de dsEAA está associado a anormalidades psicológicas e cognitivas semelhantes às encontradas em indivíduos com DA e outros tipos de demências relacionadas.<sup>65</sup> A administração em ratos machos de uma única dose injetável de 17 $\beta$ -trembolona, um potente EAA, conduziu a uma rápida acumulação de A $\beta$  no plasma e no hipocampo, sugerindo a relação entre a administração de dsEAA e o aumento dos níveis de A $\beta$ .<sup>66</sup> De modo semelhante, os baixos níveis de testosterona e o hipogonadismo resultante da suspensão da administração de EAA em antigos utilizadores, estão relacionados com o aumento dos níveis de A $\beta$  e de proteína Tau hiperfosforilada, como consequência do favorecimento da via amiloidogénica e da desregulação da atividade da GSK3 $\beta$ .<sup>65</sup>

Coletivamente, vários estudos demonstram que tanto na presença de baixos níveis como na presença de níveis suprafisiológicos de testosterona, existe uma maior suscetibilidade para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas por interferência na homeostase neuronal.<sup>65</sup>

## 6- Desenvolvimento de novos fármacos esteroides

Como referido inicialmente, os neurosteroides representam moléculas chave no cérebro, participando num vasto número de funções neuronais. No que diz respeito à DA, estudos conduzidos em modelos de rato 3xTg-AD vieram confirmar a ação do neurosteróide alopregnenolona sobre a restauração da normal função cognitiva, por indução da regeneração e sobrevivência de novos neurónios no hipocampo, acompanhada da redução dos marcadores patológicos da doença.<sup>67</sup> Inclusivamente, está a decorrer atualmente um ensaio clínico de fase II com o objetivo de determinar a segurança e a eficácia a longo prazo da alopregnenolona na restauração da integridade estrutural e da função cognitiva em indivíduos com DA moderada.<sup>68</sup> Este estudo tem, por isso, o potencial de fornecer informações essenciais para a futura implementação da alopregnenolona como uma nova abordagem terapêutica da DA.<sup>11</sup>

Embora o efeito lateral mais comum seja a sedação reversível, derivada da extensão de atuação sobre os recetores GABA<sub>A</sub>, a administração de neurosteroides naturais exógenos é considerada segura e bem tolerada.<sup>11</sup> No entanto, existem algumas preocupações relativamente aos metabolitos dos neurosteroides naturais, em particular da alopregnenolona. Este neurosteróide, tal como outros contendo um grupo C3-hidroxilo livre, está sujeito à conversão metabólica por ação da 3 $\alpha$ -hidroxiesteroide desidrogenase, originando o metabolito intermediário ativo dihidroprogesterona. A administração crónica de neurosteroides como a alopregnenolona pode resultar na acumulação destes metabolitos que, por sua vez, se ligam aos recetores esteroides, provocando consideráveis efeitos hormonais adversos, incluindo a desregulação dos ciclos hormonais femininos. Todavia, este entrave é contornado com êxito pelos análogos sintéticos dos neurosteroides, como é o exemplo da ganaxolona. Estes neurosteroides sintéticos, por não sofrerem o processo de conversão, evitam, potencialmente, efeitos hormonais adversos.<sup>11</sup> Estes compostos apresentam uma maior biodisponibilidade e tempo de semivida comparativamente aos neurosteroides naturais de administração crónica, que são rapidamente inativados e eliminados por glucoronidação ou sulfoconjugação ao nível do grupo C3-hidroxilo. Para além disso, os análogos sintéticos dos neurosteroides possuem a vantagem de poderem ser administrados oralmente.<sup>13</sup>

Em concordância com o supramencionado, a THS com estrogénios constitui uma abordagem terapêutica promissora em fase de avaliação no que respeita à prevenção do desenvolvimento de determinadas doenças, onde o decaimento hormonal desempenha uma ação pertinente. Apesar dos constatados benefícios do estradiol, decorrentes das suas propriedades neuroprotetoras, existem limitações associadas à sua administração na THS,

incluindo o seu efeito feminizante e a ação desencadeante de cancros ER-positivos. Nesta sequência, surge a necessidade de criar ligandos dos ER, capazes de desempenharem ações neuroprotetoras, sem causarem os efeitos deletérios descritos. Assim, nos últimos anos, têm sido desenvolvidos moduladores seletivos dos recetores de estrogénios (SERMs). Estas moléculas ligam-se ao domínio de ligação ao ligante presente nos ER, atuando como agonistas ou antagonistas destes recetores, dependendo do tecido onde atuam. SERMs como o tamoxifeno e o raloxifeno são usados como antagonistas dos ER no tratamento de cancros ER-positivos, ao passo que o raloxifeno e o bazedoxifeno são usados como agonistas dos ER na prevenção da osteoporose na pós-menopausa e no tratamento dos sintomas menopáusicos, respetivamente. Após ligação, o facto de cada SERM conferir uma estrutura tridimensional diferente ao ER leva ao favorecimento ou impedimento do recrutamento de distintos coativadores e co-repressores transcricionais. Por este motivo e em conjunto com os padrões específicos dos co-reguladores transcricionais presentes nos vários tipos de células, os SERMs vão possuir uma atividade agonista ou antagonista dos ER específica para cada tecido.<sup>4</sup>

Relativamente a doenças androgéno-dependentes, verifica-se que a terapia baseada em antagonistas dos AR conduz a efeitos adversos significativos, derivados da perda da ação anabólica dos androgénios. Neste seguimento, encontram-se atualmente em desenvolvimento clínico moduladores seletivos dos recetores dos androgénios (SARMs). No caso em particular da BSMA, a utilização de SARMs em detrimento de antagonistas totais dos androgénios apresenta vantagens consideráveis, uma vez que a administração destes compostos permite a preservação da atividade anabólica essencial dos androgénios, ao mesmo tempo que impede o ganho da função tóxica do ARpoliQ, revelando ser, por isso, uma abordagem terapêutica promissora.<sup>63</sup>

## **7- Conclusões e perspetivas futuras**

Sabe-se há muito que a atividade das hormonas sexuais no SNC não está restringida apenas ao controlo das funções reprodutivas e do comportamento sexual. As hormonas esteroides, quer as de origem periférica quer as sintetizadas ao nível do sistema nervoso, estão envolvidas no processo cognitivo, de memória e aprendizagem, bem como na coordenação das funções motoras, uma vez que são responsáveis por prevenir a apoptose neuronal, promover a neurogénese, aumentar as interações sinápticas e reduzir os processos neuroinflamatórios. Nos últimos anos, tem vindo a reconhecer-se, cada vez mais, o papel das

hormonas sexuais no dimorfismo cerebral e nas diferenças sexuais na predisposição para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas.

Verifica-se que, na presença de condições de degeneração neuronal, a expressão da aromatase e a síntese de neurosteroides está aumentada, possivelmente como resposta compensatória do próprio organismo, numa tentativa de reencontrar a homeostase neuronal. Deste modo, o desenvolvimento de novos fármacos, capazes de modular positivamente a neurosteroidogénese e a ação da aromatase, mostra-se bastante promissor na prevenção e resolução dos danos neuronais. Neste seguimento, o desenvolvimento de compostos farmacêuticos que funcionam como ligandos da TSPO, demonstra particular interesse na indução da biossíntese de neurosteroides, por amplificarem o transporte da molécula de colesterol da membrana externa para a membrana interna da mitocôndria, que como dissemos, representa o passo crucial da neurosteroidogénese. Adicionalmente, a regulação da aromatase por compostos naturais ou sintéticos abre a possibilidade de se modular seletivamente a biossíntese de hormonas sexuais, como o estradiol, ao nível do cérebro humano, o que se traduz numa abordagem terapêutica promissora para doenças cujos níveis de estradiol se encontram afetados.

Como verificado, ao longo da vida vão surgindo alterações endócrinas em ambos os sexos. No entanto, é no sexo feminino que estas alterações hormonais são mais demarcadas. A perimenopausa constitui um momento da vida da mulher em que existe uma acrescida vulnerabilidade cognitiva, derivado do abrupto decaimento hormonal. Este, por sua vez, está associado à desregulação do equilíbrio entre a produção e a eliminação da proteína A $\beta$  e à desregulação da fosforilação da proteína Tau, conduzindo a um risco aumentado de desenvolver DA. Neste sentido, a utilização dos neurosteroides como biomarcadores da doença e como agentes terapêuticos, tem vindo a demonstrar interesse na comunidade científica. De facto, a identificação da correlação entre a deficiência de estrogénios e o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas conduziu ao estudo da eficácia das terapias de substituição, em particular nas mulheres pós-menopausa. Contudo, em contraste com os vários estudos realizados com sucesso em modelos animais, a maioria dos ensaios clínicos tem falhado na demonstração da eficácia da THS na prevenção e tratamento deste tipo de doenças. Isto pode ser explicado pelo facto das hormonas esteroides terem sido, em muitos casos, administradas a indivíduos com um estado avançado da doença ou com deficiências intrínsecas na atividade das enzimas neurosteroidogénicas. Adicionalmente, o pequeno número de intervenientes, a curta duração do estudo, a existência de outro tipo de patologias e fatores de risco, a dosagem, forma farmacêutica, via e a periodicidade da administração hormonal



podem estar na origem da divergência dos resultados. Mulheres com fenótipos inflamatórios e metabólicos conducentes para um risco aumentado de desenvolver DA poderão constituir uma população alvo que beneficiará da utilização da THS que, por sua vez, pode ser complementada com as terapias atualmente existentes, de forma a promover o aumento da eficácia terapêutica. Desta forma, torna-se essencial a realização de estudos longos, bem desenhados, e, que tenham em conta as diferentes variáveis dos participantes, de forma que os resultados da utilização da THS converjam para as respostas que ainda permanecem em aberto.

No que respeita à perspetiva do tratamento, a evidência emergente aponta para a possibilidade de os fatores hormonais contribuírem para a variedade da eficácia clínica das diferentes terapias em ambos os sexos. As diferenças sexuais devem, por isso, passar a constituir uma prioridade no desenvolvimento de novas terapêuticas de doenças neurodegenerativas como a DA, desde a fase pré-clínica, por inclusão de modelos fêmea de animais e tendo em consideração os diferentes estados hormonais, até aos estudos clínicos. Só com a compreensão das diferenças sexuais na resposta clínica às diferentes abordagens terapêuticas por entre as várias fases da vida de um indivíduo, se conseguirá desenvolver uma estratégia terapêutica capaz de suprir as necessidades atuais, no que concerne à prevenção e ao tratamento destas patologias.

Conclui-se, assim, que a compreensão dos mecanismos neurobiológicos subjacentes à modulação da estrutura e plasticidade neuronal pelas hormonas sexuais exógenas e endógenas terá impacto no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas responsáveis pela restauração da homeostase neuronal.

## Bibliografia

1. HANAMSAGAR, Richa; BILBO, Staci D. - Sex differences in neurodevelopmental and neurodegenerative disorders: Focus on microglial function and neuroinflammation during development. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**. ISSN 18791220. 160:2016) 127–133.
2. LARSON, Tracy A. - Sex steroids, adult neurogenesis, and inflammation in CNS homeostasis, degeneration, and repair. **Frontiers in Endocrinology**. ISSN 16642392. 9:APR (2018).
3. HOJO, Yasushi; KAWATO, Suguru - Neurosteroids in adult hippocampus of male and female rodents: Biosynthesis and actions of sex steroids. **Frontiers in Endocrinology**. ISSN 16642392. 9:APR (2018) 1–8.
4. AREVALO, Maria Angeles; AZCOITIA, Iñigo; GARCIA-SEGURA, Luis M. - The neuroprotective actions of oestradiol and oestrogen receptors. **Nature Reviews Neuroscience**. ISSN 14710048. 16:1 (2015) 17–29.
5. DUARTE, A. C. *et al.* - Sex Hormone Decline and Amyloid  $\beta$  Synthesis, Transport and Clearance in the Brain. **Journal of Neuroendocrinology**. ISSN 13652826. 28:11 (2016).
6. MENDELL, Ari Loren; MACLUSKY, Neil James - Neurosteroid Metabolites of Gonadal Steroid Hormones in Neuroprotection: Implications for Sex Differences in Neurodegenerative Disease. **Frontiers in Molecular Neuroscience**. ISSN 16625099. 11:October (2018) 1–18.
7. VEGETO, Elisabetta *et al.* - The role of sex and sex hormones in neurodegenerative diseases. **Endocrine Reviews**. ISSN 19457189. 41:2 (2019) 273–319.
8. YILMAZ, Canelif *et al.* - Neurosteroids as regulators of neuroinflammation. **Frontiers in Neuroendocrinology**. ISSN 10956808. 55:September (2019).
9. LLOYD-EVANS, Emyr; WALLER-EVANS, Helen - Biosynthesis and signalling functions of central and peripheral nervous system neurosteroids in health and disease. **Essays in Biochemistry**. ISSN 00711365. 64:3 (2020) 591–606.
10. UBUKA, Takayoshi; TRUDEAU, Vance L.; PARHAR, Ishwar - Editorial: Steroids and the Brain. **Frontiers in Endocrinology**. ISSN 16642392. 11:June (2020) 1–5.
11. REDDY, Doodipala Samba; ESTES, William A. - Clinical Potential of Neurosteroids for CNS Disorders. **Trends in Pharmacological Sciences**. ISSN 18733735. 37:7 (2016) 543–

561.

12. PIKE, Christian J. - Sex and the development of Alzheimer's disease. **Journal of Neuroscience Research**. ISSN 10974547. 95:1–2 (2017) 671–680.
13. BOROWICZ, Kinga K. *et al.* - Neuroprotective actions of neurosteroids. **Frontiers in Endocrinology**. ISSN 16642392. 2:OCT (2011) 1–10.
14. CARUSO, D. *et al.* - Effect of short-and long-term gonadectomy on neuroactive steroid levels in the central and peripheral nervous system of male and female rats. **Journal of Neuroendocrinology**. ISSN 09538194. 22:11 (2010) 1137–1147.
15. KOENIG, Herbert L. *et al.* - Progesterone synthesis and myelin formation by schwann cells. **Obstetrical and Gynecological Survey**. ISSN 15339866. 50:11 (1995) 792–793.
16. GAINARD, Pauline *et al.* - Role of sex hormones on brain mitochondrial function, with special reference to aging and neurodegenerative diseases. **Frontiers in Aging Neuroscience**. ISSN 16634365. 9:DEC (2017) 1–18.
17. HENDERSON, Victor W. - Alzheimer's disease: Review of hormone therapy trials and implications for treatment and prevention after menopause. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**. ISSN 18791220. 142:2014) 99–106.
18. WEBER, Callie M.; CLYNE, Alisa Morss - Sex differences in the blood-brain barrier and neurodegenerative diseases. **APL Bioengineering**. ISSN 24732877. 5:1 (2021) 1–12.
19. WAGER, Maret G. Taraber And Jan F. Stevens - NIH Public Access. **Bone**. ISSN 15378276. 23:1 (2011) 1–7.
20. SIERRA, Amanda *et al.* - ABSTRACT : 2001) 318–329.
21. VEST, Rebekah S.; PIKE, Christian J. - Gender, sex steroid hormones, and Alzheimer's disease. **Hormones and Behavior**. ISSN 0018506X. 63:2 (2013) 301–307.
22. ALEXANDER, Brenda M.; SKINNER, Donal C.; ROSELLI, Charles E. - Wired on steroids: Sexual differentiation of the brain and its role in the expression of sexual partner preferences. **Frontiers in Endocrinology**. ISSN 16642392. 2:OCT (2011) 1–11.
23. MIELKE, Michelle M.; VEMURI, Prashanthi; ROCCA, Walter A. - Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: Assessing sex and gender differences. **Clinical Epidemiology**. ISSN 11791349. 6:1 (2014) 37–48.
24. EKENROS, L. *et al.* - Expression of sex steroid hormone receptors in human skeletal muscle during the menstrual cycle. **Acta Physiologica**. ISSN 17481716. 219:2 (2017) 486–

493.

25. PINTO, Jonathan Martínez; CASTILLO, Rodrigo L.; SOTOMAYOR-ZÁRATE, Ramón - Sex Hormones: Role in Neurodegenerative Diseases and Addiction. **Sex Hormones in Neurodegenerative Processes and Diseases**. May 2018 (2018).
26. MAHMOUD, Rand; WAINWRIGHT, Steven R.; GALEA, Liisa A. M. - Sex hormones and adult hippocampal neurogenesis: Regulation, implications, and potential mechanisms. **Frontiers in Neuroendocrinology**. ISSN 10956808. 41:2016) 129–152.
27. MAZURE, Carolyn M.; SWENDSEN, Joel - Sex differences in Alzheimer's disease and other dementias. **The Lancet Neurology**. ISSN 14744465. 15:5 (2016) 451–452.
28. GAINARD, P. *et al.* - Sex differences in brain mitochondrial metabolism: influence of endogenous steroids and stroke. **Journal of Neuroendocrinology**. ISSN 13652826. 30:2 (2018) 1–12.
29. MOSCONI, Lisa *et al.* - Sex differences in Alzheimer risk. **Neurology**. ISSN 1526632X. 89:13 (2017) 1382–1390.
30. HERNANDEZ, Gerson D.; BRINTON, Roberta Diaz - The Neurological and Immunological Transitions of the Perimenopause: Implications for Postmenopausal Neurodegenerative Disease. 2019) 9–25.
31. HANSEN, Mette - Female hormones: Do they influence muscle and tendon protein metabolism? **Proceedings of the Nutrition Society**. ISSN 14752719. 77:1 (2018) 32–41.
32. BENEDUSI, Valeria *et al.* - Ovariectomy shortens the life span of female mice. **Oncotarget**. ISSN 19492553. 6:13 (2015) 10801–10811.
33. ROCCA, Walter A. *et al.* - Sex and gender differences in the causes of dementia: A narrative review. **Maturitas**. ISSN 18734111. 79:2 (2014) 196–201.
34. NEBEL, Rebecca A. *et al.* - Understanding the impact of sex and gender in Alzheimer's disease: A call to action. **Alzheimer's and Dementia**. ISSN 15525279. 14:9 (2018) 1171–1183.
35. ROSARIO, Emily R. *et al.* - Brain levels of sex steroid hormones in men and women during normal aging and in Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**. ISSN 01974580. 32:4 (2011) 604–613.
36. PAOLETTI, A. M. *et al.* - Low androgenization index in elderly women and elderly men with Alzheimer's disease. **Neurology**. ISSN 00283878. 62:2 (2004) 301–303.

37. NAYLOR, Jennifer C. *et al.* - Allopregnanolone levels are reduced in temporal cortex in patients with Alzheimer's disease compared to cognitively intact control subjects. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**. ISSN 13881981. 1801:8 (2010) 951–959.
38. LUCHETTI, Sabina *et al.* - Neurosteroid biosynthetic pathways changes in prefrontal cortex in Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**. ISSN 01974580. 32:11 (2011) 1964–1976.
39. BOVE, Riley *et al.* - Age at surgical menopause influences cognitive decline and Alzheimer pathology in older women. **Neurology**. ISSN 1526632X. 82:3 (2014) 222–229.
40. NEAD, Kevin T. *et al.* - Androgen deprivation therapy and future Alzheimer's disease risk. **Journal of Clinical Oncology**. ISSN 15277755. 34:6 (2016) 566–571.
41. AMTUL, Z. *et al.* - Neuroprotective mechanism conferred by 17beta-estradiol on the biochemical basis of Alzheimer's disease. **Neuroscience**. ISSN 03064522. 169:2 (2010) 781–786.
42. LI, Rena *et al.* - Brain endogenous estrogen levels determine responses to estrogen replacement therapy via regulation of BACE1 and NEP in female Alzheimer's transgenic mice. **Molecular Neurobiology**. ISSN 15591182. 47:3 (2013) 857–867.
43. JUNG, Joo In *et al.* - Steroids as  $\gamma$ -secretase modulators. **FASEB Journal**. ISSN 15306860. 27:9 (2013) 3775–3785.
44. ZHAO, Liqin *et al.* - Continuous versus cyclic progesterone exposure differentially regulates hippocampal gene expression and functional profiles. **PLoS ONE**. ISSN 19326203. 7:2 (2012) 1–14.
45. MCALLISTER, Carrie *et al.* - Genetic targeting aromatase in male amyloid precursor protein transgenic mice down-regulates  $\beta$ -secretase (BACE1) and prevents Alzheimer-like pathology and cognitive impairment. **Journal of Neuroscience**. ISSN 02706474. 30:21 (2010) 7326–7334.
46. LOCHER, Kaspar P. - Mechanistic diversity in ATP-binding cassette (ABC) transporters. **Nature Structural and Molecular Biology**. ISSN 15459985. 23:6 (2016) 487–493.
47. FAN, Jianjia; DONKIN, James; WELLINGTON, Cheryl - Greasing the wheels of A $\beta$  clearance in Alzheimer's Disease: The role of lipids and apolipoprotein e. **BioFactors**. ISSN 09516433. 35:3 (2009) 239–248.

48. COSTA, Rita *et al.* - Transthyretin protects against A-beta peptide toxicity by proteolytic cleavage of the peptide: A mechanism sensitive to the kunitz protease inhibitor. **PLoS ONE**. ISSN 19326203. 3:8 (2008).
49. ZHAO, Liqin *et al.* - 17 $\beta$ -Estradiol regulates insulin-degrading enzyme expression via an ER $\beta$ /PI3-K pathway in hippocampus: Relevance to Alzheimer's prevention. **Neurobiology of Aging**. ISSN 01974580. 32:11 (2011) 1949–1963.
50. MUÑOZ-MAYORGA, Daniel *et al.* - Tau phosphorylation in female neurodegeneration: Role of estrogens, progesterone, and prolactin. **Frontiers in Endocrinology**. ISSN 16642392. 9:MAR (2018) 1–8.
51. MARTIN, Ludovic *et al.* - Tau protein kinases: Involvement in Alzheimer's disease. **Ageing Research Reviews**. ISSN 15681637. 12:1 (2013) 289–309.
52. HANSBERG-PASTOR, Valeria *et al.* - Sex hormones regulate cytoskeletal proteins involved in brain plasticity. **Frontiers in Psychiatry**. ISSN 16640640. 6:NOV (2015).
53. JIA, Lin; PIÑA-CRESPO, Juan; LI, Yonghe - Restoring Wnt/ $\beta$ -catenin signaling is a promising therapeutic strategy for Alzheimer's disease. **Molecular Brain**. ISSN 17566606. 12:1 (2019) 1–11.
54. SINGH, Meharvan; SU, Chang - Progesterone and neuroprotection. **Hormones and Behavior**. ISSN 0018506X. 63:2 (2013) 284–290.
55. YUN, Jaesuk *et al.* - Estrogen deficiency exacerbates A $\beta$ -induced memory impairment through enhancement of neuroinflammation, amyloidogenesis and NF- $\kappa$ B activation in ovariectomized mice. **Brain, Behavior, and Immunity**. ISSN 10902139. 73:May (2018) 282–293.
56. MCCARREY, Anna C.; RESNICK, Susan M. - Postmenopausal hormone therapy and cognition. **Hormones and Behavior**. ISSN 10956867. 74:2015) 167–172.
57. SCOTT, Erin *et al.* - Estrogen neuroprotection and the critical period hypothesis. **Frontiers in Neuroendocrinology**. ISSN 00913022. 33:1 (2012) 85–104.
58. SHAO, Huibo *et al.* - Hormone therapy and Alzheimer disease dementia: New findings from the Cache County Study. **Neurology**. ISSN 1526632X. 79:18 (2012) 1846–1852.
59. MARJORIBANKS, Jane *et al.* - Cochrane corner: Long-term hormone therapy for perimenopausal and postmenopausal women. **Heart**. ISSN 1468201X. 104:2 (2018) 93–95.
60. KANG, Min Gu *et al.* - Effect of leuporelin in bulbar function of spinal and bulbar

muscular atrophy patients: observational study for 1 year. **Journal of Neurology**. ISSN 14321459. 0123456789 (2021).

61. HASHIZUME, Atsushi *et al.* - Disease mechanism, biomarker and therapeutics for spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA). **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**. ISSN 1468330X. 91:10 (2020) 1085–1091.

62. ARNOLD, Frederick J.; MERRY, Diane E. - Molecular Mechanisms and Therapeutics for SBMA/Kennedy's Disease. **Neurotherapeutics**. ISSN 18787479. 16:4 (2019) 928–947.

63. GRUNSEICH, Christopher; FISCHBECK, Kenneth H. - Molecular pathogenesis of spinal bulbar muscular atrophy (Kennedy's disease) and avenues for treatment. **Current opinion in neurology**. ISSN 14736551. 33:5 (2020) 629–634.

64. ROCHA, Madalena; AGUIAR, Fátima; RAMOS, Helena - O uso de esteroides androgénicos anabolizantes e outros suplementos ergogénicos – uma epidemia silenciosa. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**. ISSN 16463439. 9:2 (2014) 98–105.

65. KAUFMAN, Marc J. *et al.* - Supraphysiologic-dose anabolic–androgenic steroid use: A risk factor for dementia? **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**. ISSN 18737528. 100:February (2019) 180–207.

66. MA, Fucui; LIU, Daicheng - 17β-Trenbolone, an Anabolic-Androgenic Steroid As Well As an Environmental Hormone, Contributes To Neurodegeneration. **Toxicology and Applied Pharmacology**. ISSN 10960333. 282:1 (2015) 68–76.

67. BRINTON, Roberta D. - Neurosteroids as regenerative agents in the brain: Therapeutic implications. **Nature Reviews Endocrinology**. ISSN 17595029. 9:4 (2013) 241–250.

68. **Allopregnanolone Regenerative Therapeutic for Early Alzheimer's Disease: Intramuscular Study - Full Text View - ClinicalTrials.gov** - [Consultado a 25 julho de 2021]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04838301>